
BACHELORARBEIT

Stefanie Geske

**Erprobung miniaturisierter
Multisensorik für den
Brauprozess**

Mittweida, 2012

Bachelorarbeit

Erprobung miniaturisierter Multisensorik für den Brauprozess

Autor:

Stefanie Geske

Studiengang:

Biotechnologie/Bioinformatik

Seminargruppe:

BI09w3-B

Erstprüfer:

Herr Prof. Dr. rer. nat. Falk Richter

Zweitprüfer:

Frau Dipl.-Nat. Sandra Päßler

Einreichung:

Mittweida, 15.08.2012

Verteidigung/Bewertung:

Mittweida, 2012

Bibliographische Beschreibung:

Geske, Stefanie: Erprobung miniaturisierter Multisensorik für den Brauprozess. - 2012. – 9 Seiten Verzeichnisse, 42 Seiten Inhalt, 7 Seiten Anhänge. Mittweida, Hochschule Mittweida, Fakultät Mathematik/Naturwissenschaften/Informatik, Bachelorarbeit, 2012

Englischer Titel

Testing of miniaturised multisensors for brewing process

Kurzbeschreibung:

Der Prozess des Bierbrauens beruht bisher auf Erfahrungswerten. Mit vorliegender Arbeit wird dieses Verfahren im Modellmaßstab anhand mehrerer relevanter Parameter untersucht und charakterisiert. Verschiedene elektrochemische Elektroden und Sensoren werden zur simultanen Messung eingesetzt. Die Zusammenhänge zwischen pH-Wert, Redoxpotential, O₂-, CO₂-Konzentration sowie Hefevitalität und fertigem Produkt werden untersucht und näher beschrieben. Es soll ein Einstieg in die In-situ-Messung während des Brauens gegeben werden. Dafür werden die Reaktionsbedingungen auf unterschiedlichste Weise verändert. Variiert werden z.B. die Reaktionstemperatur, das Reaktionsmedium, die Hefeart sowie die Form des Reaktionsgefäßes. Die Elektroden und Sensoren werden anhand der Ergebnisse bewertet. Abschließend wird der Einsatz dieser in einem Bauteil zur multiparametrischen Messung im Produktionsmaßstab beurteilt.

Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Professor Falk Richter und Frau Sandra Päßler für ihre Betreuung meiner Praktikums- und Bachelorarbeit bedanken. Durch ihre ausdauernden Fragen und Anregungen konnte ich meine Arbeit stetig verbessern. Beide Betreuer motivierten mich durch Neugier und Erfolgserlebnisse zu dieser Bachelorarbeit.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich dem Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V. Meinsberg aussprechen. Die hilfsbereite und freundliche Art aller Mitarbeiter hat mir meine Arbeit überdies sehr erleichtert und angenehm gestaltet. Vielen Dank, dass ich meine Praktikums- und Bachelorarbeit an diesem Institut anfertigen durfte.

Nicht zuletzt gilt mein liebevollster Dank meiner gesamten Familie und meinem Freund, die mich auf meinem langen Weg bis zu diesem Abschluss mit starken Nerven und viel Geduld begleitet haben. Ein großes Dankeschön geht noch mal an meine Eltern für ihre moralische und finanzielle Unterstützung dieser Entscheidung.

Vielen, vielen Dank auch an Susanne Bause für ihre Sorgfalt bei zahlreichen Korrekturlesungen. Auch als enge Vertraute und Begleiterin dieses letzten Studienabschnittes spielt sie eine wichtige Rolle für mich. Danke an alle meine ehemaligen und aktuellen Kommilitonen für eine wunderschöne Studienzeit.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VI
Symbolverzeichnis	VI
1 Einleitung und Zielstellung	1
2 Grundlagen	3
2.1 Elektroden und Sensoren	3
2.1.1 pH- und Redox-Elektrode	3
2.1.2 Sauerstoff-Sensor	4
2.1.3 CO ₂ -Sensor	4
2.2 Bierherstellung	6
2.3 Hefe	8
3 Durchführung	9
3.1 Kalibrierung CO ₂ -Sensor	9
3.2 Multiparameter-Messungen	10
3.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	12
4 Ergebnisse und Auswertung	14
4.1 Kalibrierung CO ₂ -Sensor	14
4.2 Kalibrierungen von pH- und Redox-Elektrode	15
4.3 Kalibrierung des Sauerstoff-Sensors	17
4.4 Multiparametermessungen	18
4.4.1 Einfluss verschiedener Hefearten	18
4.4.2 Einfluss unterschiedlicher Massen einer Hefeart	22
4.4.3 Abhängigkeit der Messwerte von portionierter Zuckerzugabe	25
4.4.5 Einfluss eines zylindrischen Messbechers	31
4.4.6 Einflussnahme des Rührens	34
4.4.7 Verlauf von O ₂ - und CO ₂ -Konzentration während der Gärung	36
4.4.8 Überprüfung der Referenz-Elektrode	37
4.5 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	39
5 Zusammenfassung und Ausblick	41
Literaturverzeichnis	VIII
Anhang	X
Material	X
1 Chemikalien	X
2 Labormaterial	XI
3 Geräte	XI

Ergebnisse	XII
1 Kalibrierung CO ₂ -Sensor	XII
2 Kalibrierung pH-Elektrode	XII
3 Kalibrierung Redox-Elektrode.....	XII
4 Kalibrierung O ₂ -Sensor.....	XIII
5 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	XIII
Selbstständigkeitserklärung	

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau CO ₂ -Sensor [10]	4
Abbildung 2: Temperaturabhängigkeit des in Wasser gelösten CO ₂ [21].....	6
Abbildung 3: Abfolge des Brauvorgangs [14].....	7
Abbildung 4: Reaktionen der alkoholischen Gärung [17].....	8
Abbildung 5: Messaufbau der CO ₂ -Kalibrierung.....	9
Abbildung 6: Abhängigkeit des Anteils an CO ₂ /HCO ₃ ⁻ /CO ₃ ²⁻ vom pH-Wert [20]	10
Abbildung 7: Messaufbau der Multiparameter-Messungen.....	11
Abbildung 8: Schema einer HPLC-Anlage [18]	12
Abbildung 9: Kalibrierung CO ₂ -Sensor	14
Abbildung 10: Kalibrierungen pH-Elektrode Ch-pH-01	16
Abbildung 11: Überprüfungen Redox-Elektrode Ch-Redox-13	17
Abbildung 12: Vergleich der Kalibrierungen des Sauerstoff-Sensors Nr.62	18
Abbildung 13: pH-Messung in verschiedenen Hefesuspensionen	19
Abbildung 14: Abhängigkeit des pH-Wertes von der CO ₂ -Konzentration in zwei verschiedenen Hefesuspensionen.....	20
Abbildung 15: Redoxpotentialmessung in verschiedenen Hefesuspensionen	21
Abbildung 16: Verlauf des pH-Wertes bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen	22
Abbildung 17: Verlauf des Redoxpotentials bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen ..	23
Abbildung 18: Verlauf der CO ₂ -Konzentration bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen	24
Abbildung 19: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Bäckerhefemediums (in aqua dest.) bei portionierter Zuckerzugabe	25
Abbildung 20: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Bäckerhefemediums (in Leitungswasser) bei portionierter Zuckerzugabe	26
Abbildung 21: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Brauhefemediums (in aqua dest.) bei portionierter Zuckerzugabe	27
Abbildung 22: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Brauhefemediums (in Leitungswasser) bei portionierter Zuckerzugabe	28
Abbildung 23: Einfluss einer Zuckerzugabe von m = 1,73 g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium.....	29
Abbildung 24: Einfluss einer Zuckerzugabe von m = 3,45 g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium.....	30
Abbildung 25: Einfluss einer Zuckerzugabe von m = 13,81 g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium.....	31
Abbildung 26: Messung des pH-Wertes, des Redoxpotentials und der Sauerstoffkonzentration am oberen Messpunkt im Messzylinder	32
Abbildung 27: Messung des pH-Wertes, des Redoxpotentials und der Sauerstoffkonzentration am unteren Messpunkt im Messzylinder	33

Abbildung 28: Einfluss des Rührens auf die Parameter in einem Bäckerhefemedium.....	34
Abbildung 29: Einfluss des Rührens auf die Parameter in einem Bäckerhefemedium.....	35
Abbildung 30: Verlauf von Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentration im Bäckerhefemedium.....	36
Abbildung 31: mehrmalige Überprüfung der Referenz-Elektrode Ch-Ref-05	37
Abbildung 32: Foto einer ungenutzten Referenz-Elektrode (links) mit Diaphragma (rechts).....	38
Abbildung 33: Foto einer Referenz-Elektrode (links) mit Verschmutzung des Diaphragmas (rechts) nach mehrmaligem Einsatz	38
Abbildung 34: qualitative und quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe und ihrer Konzentrationen im Bier durch Hochleistungsflüssigkeits- chromatographie.....	40

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Potentialwerte CO₂-Sensor G21	XII
Tabelle 2: Messwerte der Kalibrierungen der pH-Elektrode Ch-pH-01	XII
Tabelle 3: Messwerte der Kalibrierungen der Redox-Elektrode Ch-Redox-13	XII
Tabelle 4: Messwerte der Kalibrierungen des Sauerstoff-Sensors Nr.62	XIII
Tabelle 5: Messwerte der HPLC-Messung.....	XIII

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ADH	Alkoholdehydrogenase
aqua dest.	aqua destillata/ destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography/ Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Konz.	Konzentration
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid (oxidierte Form)
NADH + H ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form)
NHE	Standard- oder Normal-Wasserstoff-Elektrode
P _i	Phosphatrest
ZKT	zylindrokonische Tanks

Symbolverzeichnis

$a_{Ox/Red}$	Aktivität des Oxidations- bzw. Reduktionsmittels
c_L	Gaskonzentration in Flüssigphase in $\frac{mol}{L}$
E	Elektrodenpotential in mV
E_0	Standardelektrodenpotential in mV
F	Faraday-Konstante ($F = 96485,34 \frac{C}{mol}$)
F_N	theoretischer Nernstfaktor ($F_N = 59,16 \frac{mV}{pH}$ bei 25° C)
F_{St}	Elektrodensteilheit, tatsächlich gemessen in $\frac{mV}{pH}$
ΔH_f^0	Standardbildungsenthalpie in $\frac{kJ}{mol}$

K_H	Henry-Koeffizient in $\frac{g}{L \cdot bar}$
K_i	Dissoziationskonstante, bezogen auf das Massenwirkungsgesetz
m	Masse in g
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Aktivität von H^+
p_i	Partialdruck eines Gases in bar
pK_i	negativ dekadischer Logarithmus der jeweiligen Dissoziationskonstante
R	universelle oder molare Gaskonstante ($R = 8,31447 \frac{J}{mol \cdot K}$)
S	Sensitivität der Elektrode
T	absolute Temperatur in K
U_i	Elektrodenpotential in mV
U_0	Standardelektrodenpotential in mV
U_p	Polarisationsspannung
z_i	Anzahl der übertragenen Elektronen

1 Einleitung und Zielstellung

Das Handwerk der Bierherstellung hat sich seit seinen Anfängen drastisch gewandelt. Eine bis ins 13. Jh. verwendete beliebige Kräutermischung zum Würzen des Bieres, die Grut, enthielt mitunter giftige Zutaten, wie Rainfarn, Stechapfel oder Bilsenkraut. Diese riefen beim Biertrinker Halluzinationen hervor und förderten daher Aberglauben. Als sich mit der Zeit die Verwendung von Hopfen anstatt Grut durchsetzte, wurde das Bier haltbarer und der Brauprozess zuverlässiger. Mit der Einführung des deutschen Reinheitsgebotes konnte die Qualität der Brauereiergebnisse endlich verbessert werden. Es waren nun ausschließlich Wasser, Malz, Hopfen und Hefe als Brauzutaten erlaubt. [1]

Vor 25 Jahren wurde in den meisten großen Brauereien von der Bottichgärung auf die Gärung in zylindrokonischen Tanks (ZKT) umgestellt. Das zog eine Veränderung der anzuwendenden Technologie nach sich, da deutliche Geschmacksunterschiede auftraten. [2]

Die eigentliche Schwierigkeit bei der Herstellung und damit Kunst für viele traditionelle Betriebe ist es, eine gleichbleibende Bierqualität zu garantieren. Trotz veränderter Produktionsbedingungen nach der Umstellung von Gärbottichen auf zylindrokonische Tanks möchte der Verbraucher das für ihn typische Aroma seiner bevorzugten Biermarke weiterhin genießen. Dazu ist ein umfangreiches und detailliertes Wissen über die Vorgänge vor und während des Gärprozesses nötig und erfordert nicht zuletzt viel Fingerspitzengefühl vom Braumeister.

Der pH-Wert ist in verschiedensten Stadien des Herstellungsprozesses nicht nur von Bier von großer Bedeutung, da er sowohl Qualität als auch Kontinuität der Produkte sichert. Bereits bei der Aufarbeitung der Hefe und auch bei der späteren Gärung hängt die Wirkung der Enzyme maßgeblich vom pH-Wert ab. [3] Das pH-Optimum für *Saccharomyces cerevisiae*, so der wissenschaftliche Name für Hefe, liegt bei einem Wert um $\text{pH} = 5$. [4] Auch nach der Reinigung der Behälter und Leitungen mit starken Säuren oder Basen garantiert die Überwachung dieses Parameters, dass die Reinigungsmittel beim anschließenden Spülvorgang spurlos entfernt wurden. Ebenso hängen Haltbarkeit und Geschmack des Getränkes vom pH-Wert ab. Eine ausreichende Stabilität wird erst ab $\text{pH} = 4$ erreicht. [3]

Wässrige Lösungen ebenso wie das Brauwasser und auch die Stoffwechselreaktionen der Hefen lassen sich durch die Überwachung von pH-Wert und Redoxpotential sehr genau charakterisieren. Die relative Protonen- und Elektronenaktivität der Lösung lassen sich vergleichend abschätzen. Neben dem pH-Wert, der saure oder alkalische Bedingungen und hohe oder niedrige Protonenaktivität anzeigt, gibt das Redoxpotential über die Relation der Elektronenaktivität und oxidierende bzw. reduzierende Bedingungen Aufschluss. [3]

Die Umwandlung von Maltose zu Alkohol stellt einen Redox-Prozess dar, bei dem organisches Material sowohl oxidiert als auch reduziert wird. Dieser Elektronentransfer kann nur stattfinden, da er von Mikroorganismen katalysiert wird. [3] Um die Stoffwechselreaktionen der Hefezellen

zu prüfen, werden O_2 und CO_2 beobachtet. Die Aktivität der Zellen lässt sich z.B. anhand von Veränderungen der Sauerstoffrate analysieren. Erhöht sich die Konzentration an Kohlenstoffdioxid in der Lösung, weist dies auf den Zuckerabbau und damit auf die Entstehung von Ethanol hin. Die Kontrollen der Parameter pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentration sind dementsprechend von großer Bedeutung, da sie der Überprüfung der Bedingungen der Alkoholfermentation dienen und die Optimierung dieses Prozesses ermöglichen.

Der von lebenden Organismen beeinflusste Prozess des Bierbrauens zeigt sich trotz großer Volumina als sehr empfindlich, so dass es einer behutsamen Behandlung aller Zutaten bedarf. Das Zusammenspiel von nur vier Ausgangsstoffen ermöglicht ein außerordentlich breites Spektrum an Endprodukten. Deshalb ist es von großem Vorteil, Handwerk und Erfahrungswerte durch begründete Messwerte zu unterstützen. Bislang wurden kaum Zusammenhänge zwischen den Produktionsparametern, der Hefevitalität und dem fertigen Erzeugnis untersucht. Die Herstellung beruht hauptsächlich auf Erfahrungen. Parameter wie pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentration werden während der Gärung als In-situ-Messung in dieser Form noch nicht kontrolliert und überwacht. Da diese Größen jedoch wichtige Einflussfaktoren darstellen, ist es Anliegen meiner Arbeit, nähere Beschreibungen zu deren Abhängigkeiten zu liefern.

Messungen werden aktuell zu einem bestimmten Zeitpunkt der Produktion oder evtl. in regelmäßigen Abständen vorgenommen. Mit Hilfe einer Durchflussmesszelle oder über ein Ventil werden Probenvolumina vom Gesamtreaktionsvolumen abgezapft, um sie zu untersuchen. Das hat jedoch zur Folge, dass sich nicht nur Reaktionsverhältnisse ändern, sondern eher Momentaufnahmen entstehen. Zudem handelt es sich meist nur um Einzelkonstanten, die auf das Gesamtsystem bezogen, schwer zu interpretieren sind. Auch auf Abweichungen der Normalwerte kann auf diese Weise weniger schnell und flexibel reagiert werden. Deshalb gilt es, die vier bereits genannten Einflussgrößen zu charakterisieren, im Zusammenhang darzustellen und die Vorgänge der Fermentation mit ihrer Hilfe grundlegend zu beschreiben. Veränderte Bedingungen in der Lösung während der Umwandlung von Zucker in Ethanol sind aufzuzeigen und zu interpretieren. Die Untersuchungen streben an, den Einstieg in die In-situ-Messung während des Brauprozesses zu geben.

2 Grundlagen

2.1 Elektroden und Sensoren

Sensoren transformieren chemische, physikalische oder biologische Messgrößen in elektrische oder optische Signale. Chemosensoren erfassen dabei chemische Verbindungen oder Ionen selektiv und erzeugen konzentrationsabhängige elektrische Signale. Außerdem registrieren sie Elektronenübergänge in Redoxsystemen. [5] Elektrochemischen Sensoren liegen u.a. die Prinzipien der Konduktometrie, Potentiometrie, Voltammetrie und Amperometrie zu Grunde, wobei man in Verfahren mit oder ohne Stromfluss unterteilen kann. [6]

Die Messprinzipien von pH- und Redox-Elektrode sowie Sauerstoffsensor wurden ausführlich beschrieben [7] und sollen im Anschluss nur zusammengefasst dargestellt werden. Ergänzt wurde das sensorische System um einen Kohlenstoffdioxidsensor, dessen Funktionsweise ebenfalls nachfolgend erklärt wird.

2.1.1 pH- und Redox-Elektrode

Die stromlose Messung der Zellspannung in der Potentiometrie funktioniert über die Erfassung einer Potentialdifferenz zwischen Bezugselektrode, mit konstantem Bezugspotential, und Messelektrode, die Veränderungen in der Lösung ermittelt. Dem zu messenden Potential liegt die Nernst-Gleichung (1a) zu Grunde. [5] Redox-, wie auch pH-Messungen beruhen auf dem potentiometrischen Messprinzip. Für Redoxmessungen gilt die Abhängigkeit der Aktivitäten des Elektrodenpotentials eines Redox-Paares ($Ox + z \cdot e^- \rightarrow Red$):

$$E = E_0 \pm \frac{R \cdot T}{z_i \cdot F} \cdot \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}} \quad (1a)$$

Für pH-Wert-Messungen gilt in umgewandelter Form die Nernst-Gleichung (1b):

$$E = E_0 \pm \frac{R \cdot T}{z_i \cdot F} \cdot \ln a[H^+] \quad (1b)$$

Unter der Voraussetzung, dass $z_i = 1, T = 298,15 K \equiv 25^\circ C$ und der Umwandlung des natürlichen in den dekadischen Logarithmus ($\ln a[H^+] / \ln 10 = \log a[H^+]$) sowie $pH = -\log a[H^+]$, kann für die Wasserstoffionen sensitive pH-Elektrode die umgewandelte Nernst-Gleichung (1c) berechnet werden [5, 10]:

$$\Delta E = -0,059 V \cdot (pH_1 - pH_2) \quad \text{(vereinfachte Form)} \quad (1c)$$

2.1.2 Sauerstoff-Sensor

In der Amperometrie wird eine konstante Spannung an eine Elektrode angelegt und der sich einstellende Strom wird registriert. [5, 8]

Zur amperometrischen Sauerstoffmessung erfasst die Messzelle nach Clark die Redoxreaktion der Sauerstoffmoleküle.

An der Anode findet die Reaktion nach Gleichung 2 statt, Gleichung 3 beschreibt die Kathodenreaktion. [9]



2.1.3 CO₂-Sensor

Ebenso wie pH- und Redox-Elektrode arbeitet auch der Kohlenstoffdioxidsensor nach potentiometrischem Messprinzip. Dieser Sensor wird auch Severinghaus-Elektrode genannt und dient der quantitativen Bestimmung der Konzentration an Kohlenstoffdioxid in der Gas- oder Flüssigphase. In Abbildung 1 ist ein Beispiel für solch einen Sensor schematisch dargestellt, bestehend aus den Komponenten Temperaturfühler, pH-Glaselektrode, Referenzelektrode, Elektrolyt, Polymermembran und Messmedium. [10]

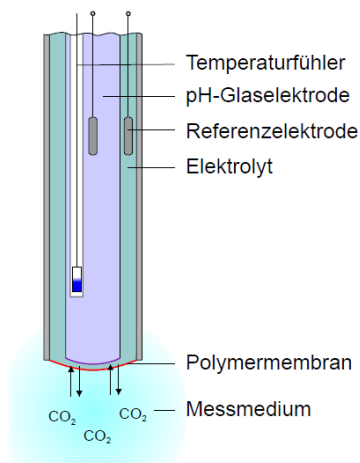
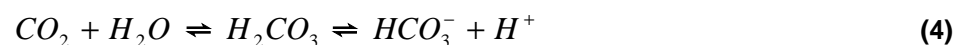


Abbildung 1: Aufbau CO₂-Sensor [10]

Gelöstes CO₂ durchdringt diese Membran und verändert den pH-Wert des im Sensorinneren enthaltenen, carbonathaltigen Elektrolyten. Diese Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes (Gleichung 4) und die damit verbundene pH-Wert-Änderung wird detektiert. [10]



Die Dissoziationskonstante K des Massenwirkungsgesetzes (Gleichung 5) für das vorliegende Reaktionsgleichgewichts ergibt sich je nach entstandener Menge an H^+ -Ionen und der CO_2 -abhängigen Verschiebung des pH-Wertes folgendermaßen: [10]

$$K_1 = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[CO_2]} \quad (5)$$

Für die Produktkonzentration $[CO_2]$ gilt nach Henry'schem Gesetz (Gleichung 6): [10]

$$[CO_2] = K_H \cdot p(CO_2) \quad (6)$$

K_H beschreibt die Henry-Konstante, einen Proportionalitätsfaktor, der nur für Drücke bis etwa 5 bar und nur für verdünnte Lösungen mit niedrigen Partialdrücken gilt. [17]

Für CO_2 in Wasser beträgt der Henry-Koeffizient $K_H = 3,38 \cdot 10^{-2} \text{ g/(L} \cdot \text{bar)}$ für einen Druck von 1,0133 bar bei einer Temperatur von 25°C . Verglichen mit den Koeffizienten anderer wasserlöslicher Gase wie N_2 ($K_H = 6,42 \cdot 10^{-4} \text{ g/(L} \cdot \text{bar)}$) oder O_2 ($K_H = 1,27 \cdot 10^{-3} \text{ g/(L} \cdot \text{bar)}$) besitzt Kohlenstoffdioxid eine sehr gute Löslichkeit [3]

Wird im nächsten Schritt die pH-Abhängigkeit (Gleichung 7) der Severinghaus-Elektrode beachtet und diese sowie die Gleichung des Henry'schen Gesetzes (Gleichung 6) in die Henderson-Hasselbach-Gleichung in logarithmischer Form eingesetzt, so ergibt sich Gleichung 8: [10]

$$pH = -\log[H^+] \quad (7)$$

$$pH = pK_2 + \log \frac{[HCO_3^-]}{K_H \cdot p(CO_2)} \quad (8)$$

Bei großen Konzentrationen an Hydrogencarbonat können diese $[HCO_3^-]$ -Ionen für die Berechnung als konstant angesehen werden. Demzufolge ergibt sich für den pH-Wert folgender Term (Gleichung 9): [10]

$$pH = K_i - \log p(CO_2) \quad (9)$$

Schließlich kann das sich ergebende Potential mit Hilfe der Gleichung 10 bestimmt werden: [10]

$$U = U_1 - S \cdot F_N \cdot pH$$

$$U = U_0 + S \cdot F_N \cdot \log p(CO_2)$$

$$\underline{\underline{U = U_0 + S \cdot F_N \cdot \log[CO_2]}} \quad (10)$$

Wie viel Kohlenstoffdioxid in wässriger Lösung vorliegt, ist laut Henry'schem Gesetz (siehe Gleichung 6) nicht nur vom Henry-Koeffizienten, dem Partialdruck und dem pH-Wert, sondern auch von der Temperatur abhängig. Diese Temperaturabhängigkeit wird in folgendem Diagramm (Abbildung 2) dargestellt:

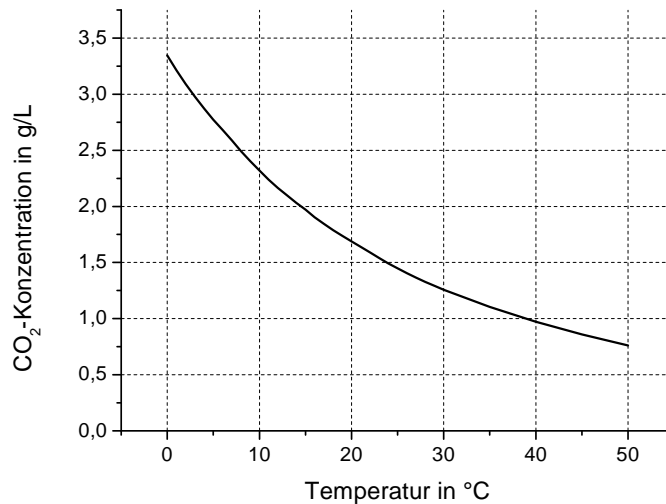


Abbildung 2: Temperaturabhängigkeit des in Wasser gelösten CO₂ [21]

Mit zunehmender Temperatur verringert sich die Kohlenstoffdioxidkonzentration in wässriger Lösung. Allgemein wird die Löslichkeit von Gasen in Wasser von der Temperatur beeinflusst, da deren Lösungsvorgänge exotherm sind. Das bedeutet, dass Energie frei wird und die Löslichkeit bei fallender Temperatur aber konstantem Druck zunimmt. Dies ist auch an der Lösungsenthalpie von CO₂ (aq) zu erkennen, dessen Wert bei $\Delta H_f^\circ = -699,6 \text{ kJ/mol}$ stark negativ ist. Außerdem ist die Löslichkeit von der Konzentration gelöster Salze abhängig. [3]

2.2 Bierherstellung

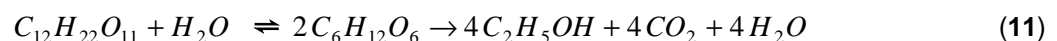
Bier besteht nach deutschem Reinheitsgebot aus Wasser, Malz, Hopfen und Hefe. Diese Anordnung gilt als die älteste heute noch gültige lebensmittelrechtliche Vorschrift der Welt. [11]

Die einzelnen Verfahrensschritte des Brauprozesses sind weitgehend geregelt. Die Herstellung beginnt damit, dass zu bestimmten Teilen Gerste und Weizen vermälzt werden. Das bedeutet, dass die Stärke des Getreides durch Weichen, Keimen und Darren in Malz umgewandelt wird. Dazu werden die Körner geschrotet, gewaschen (Weichen) und keimen auf einem flachen Rost bei 18° C. Danach trocknen die Keimlinge in der Darre mit Hilfe eines Heißluftverfahrens. Hierdurch wird auch die Farbe des späteren Bieres bestimmt, da bei Darr-Temperaturen bis 80° C helles, bei bis zu 110° C dunkles Malz entsteht. Anschließend werden das geschrotete Malz und das Brauwasser miteinander in großen Maischbottichen vermischt und langsam erhitzt. Die Stärke wird dabei von Enzymen weiter in Malzzucker umgewandelt. Später werden

die unlöslichen Teile (Treber) von der Maische getrennt, das so genannte Läutern. Die Grundwürze für das Bier ist vorhanden. [12, 13]

Die Würze gelangt anschließend in die Würzpfanne, es wird Hopfen zugegeben und etwa eine Stunde gekocht. Je mehr Hopfen der Brauer hinzufügt, desto bitterer wird das fertige Bier. Im sogenannten Whirlpool werden nun die noch verbliebenen Trübstoffe entfernt und die Lösung im Würzekühler heruntergekühlt, bevor Hefe für den anschließenden Gärprozess dazugegeben wird. [13]

Im Gärtank wandelt die Hefe den vorher durch Amylasen zu zwei Glucosemolekülen abgebauten Malzzucker (ein α -D-Glucose Disaccharid) in etwa 7 Tagen [13] zu Kohlenstoffdioxid, Wasser und Ethanol um (siehe Gleichung 11).



Nach dem Entfernen der Hefe ruht das Jungbier in einem Lagertank bis zu drei Monate. Dies hat verschiedene Gründe. So wird zum Einen der Geschmack des Bieres abgerundet, da der vorhandene Restzucker fast vollständig abgebaut wird und unerwünschte Aromen ausgetrieben werden. Außerdem wird Kohlensäure gebunden, die dem Jungbier seine Spritzigkeit verleiht. Und zum Anderen klärt sich das Bier, da restliche Hefe- und Eiweißflocken sedimentieren. Nach dieser Pause erfolgt eine abschließende Filtration, bevor das endgültige Produkt in Flaschen oder Fässer abgefüllt wird. [13] In Abbildung 3 ist der gesamte Ablauf der Bierherstellung noch einmal graphisch dargestellt.

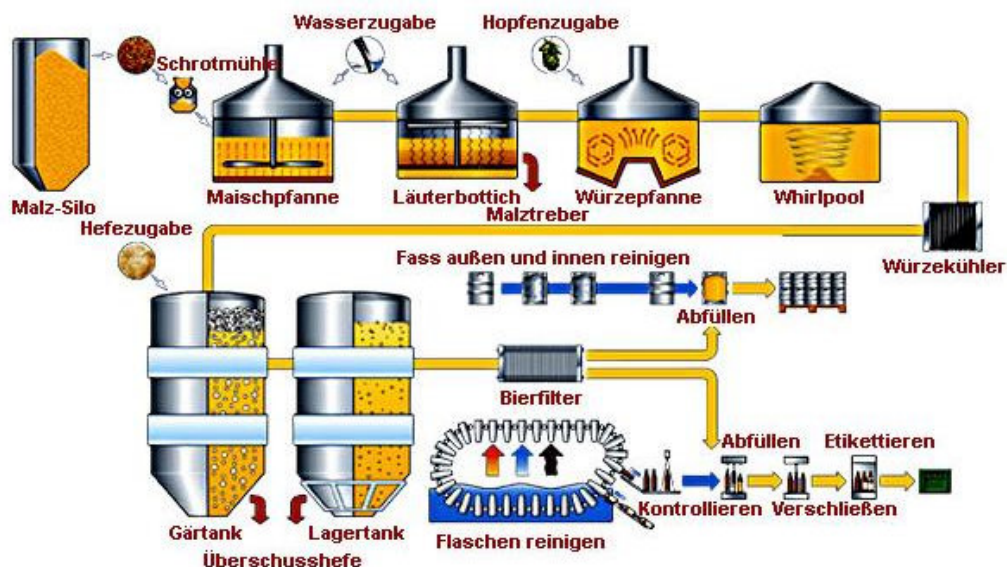


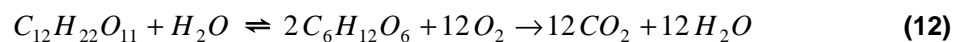
Abbildung 3: Abfolge des Brauvorgangs [14]

2.3 Hefe

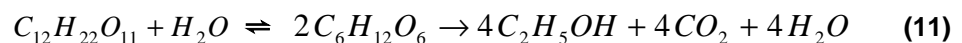
Hefen sind einzellige Pilze der Gattung Ascomycota, Schlauchpilze, die sich durch Sprossung vermehren. [15]

Für das Bierbrauen werden obergärige von untergärigen Hefearten unterschieden. Obergärige Hefen arbeiten bei Temperaturen von 15° bis 21° C, die als Sprossverbände während des Gärprozesses im Gefäß aufsteigen, was ihnen ihren Namen gibt. Untergärige Hefen hingegen bevorzugen Temperaturen von 5° bis 12° C und setzen sich im Laufe der Zeit auf dem Gefäßboden ab. [15]

Hefen haben einen fakultativ anaeroben Stoffwechsel. Ist Sauerstoff für die Zelle vorhanden, baut sie den Zucker durch Zellatmung vollständig zu Wasser und Kohlenstoffdioxid ab (Gleichung 12).



Steht kein Sauerstoff zur Verfügung, findet eine Gärungsreaktion statt. Dabei wird der Malzzucker zu Kohlenstoffdioxid, Wasser und Ethanol umgewandelt (siehe Gleichung 11). [16]



Die stöchiometrischen Verhältnisse der Gärungsreaktion stellen einen Sonderfall der Redoxreaktionen dar, da sich die Oxidationszahl des Kohlenstoffes sowohl zu +4 im Kohlenstoffdioxid als auch zu -2 im Ethanol verändert. Diese Reaktion ist eine sogenannte Disproportionierung. [16]

Anfangs wird das α -D-Glucose Disaccharid vom Enzym Amylase in zwei Monosaccharide abgebaut. Im ersten Gärungsschritt wird über die Glykolyse je ein Molekül Glucose zu zwei Molekülen Pyruvat umgesetzt. Im zweiten Schritt der Reaktion spaltet das Enzym Pyruvatdecarboxylase pro Molekül Pyruvat ein Molekül Kohlenstoffdioxid ab. Es entsteht Acetaldehyd, ein für den Organismus giftiges Reaktionszwischenprodukt. Deshalb wird diese Verbindung sofort zu Ethanol reduziert, dem dritten Gärungsschritt. Alle drei Reaktionsschritte (Abbildung 4) finden in der Zelle statt, die schlussendlich das Reaktionsprodukt Ethanol an die Umgebung abgibt. [16]

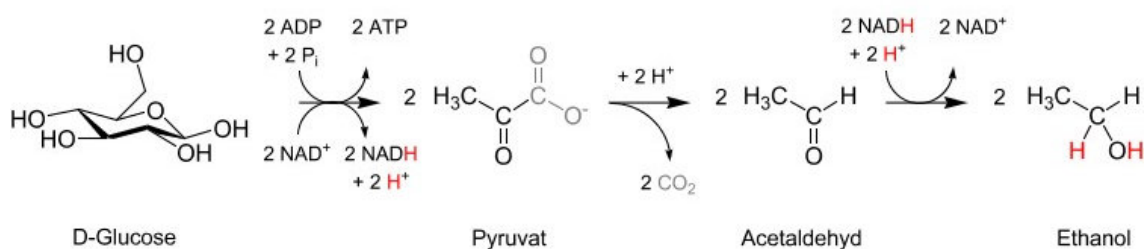


Abbildung 4: Reaktionen der alkoholischen Gärung [17]

3 Durchführung

3.1 Kalibrierung CO₂-Sensor

Unter einer Kalibrierung versteht man die momentane Messung einer Abweichung, die der Messwert des Sensors von einem festgelegten Wert, dem so genannten Normal, hat. In anschließenden Messungen mit diesem Sensor muss die ermittelte Abweichung berücksichtigt werden und dient der Korrektur der abgelesenen Werte. Aus diesem Grund wurden alle eingesetzten Elektroden und Sensoren vor ihrem ersten Gebrauch bzw. in regelmäßigen Abständen zwischen den Versuchen kalibriert. Dieser Vergleich diente gleichzeitig auch der Überprüfung des Langzeitmessverhaltens sowie der Prüfung des Elektrolytsystems der Sensoren auf Unversehrtheit.

Für eine Zwei-Punkt-Kalibrierung des CO₂-Sensors wurden zuerst etwa 200 mL Natriumhydrogencarbonat-Lösung mit der Konzentration 30 mg/L in eine temperierbare Messzelle gefüllt und auf 25° C temperiert. Dabei war darauf zu achten, das Gefäß vollständig und möglichst gasfrei zu füllen. Anschließend wurde der zu messende CO₂-Sensor G21 in die dafür vorgesehene Halterung eingesetzt, ohne Luftblasen einzubringen. Die übrigen Öffnungen wurden mit Stopfen verschlossen. 1,00 g Bernsteinsäure wurde in Pulverform dazugegeben, das Rührwerk eingeschaltet und ein geöffnetes Überdruckventil eingesetzt. Das Potential des Kohlenstoffdioxidensors wurde 20 Minuten lang aufgezeichnet. Anschließend wurde die Messzelle mit der Lösung der Konzentration 30 mg/L entleert und zweimal gründlich mit destilliertem Wasser nachgespült. Im zweiten Durchgang wurde das beschriebene Verfahren mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung mit einer Konzentration von 100 mg/L wiederholt. In Abbildung 5 ist der Messaufbau der Kohlenstoffdioxid-Kalibrierung zu sehen:

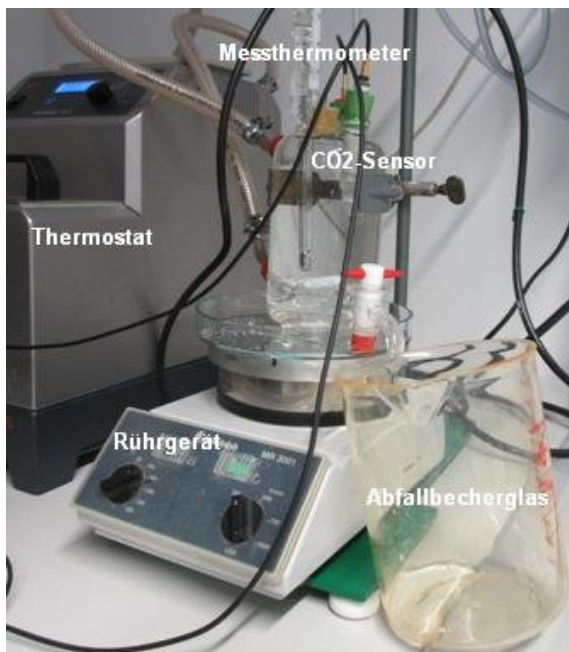
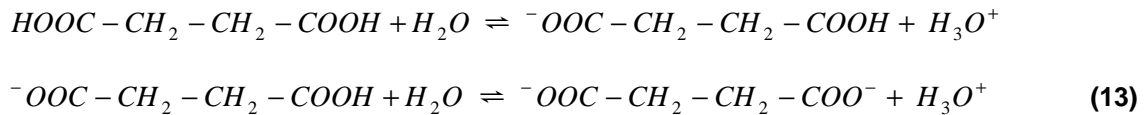


Abbildung 5: Messaufbau der CO₂-Kalibrierung

Die Zugabe der schwachen organischen Bernsteinsäure diente dazu, den pH-Wert der Natriumhydrogencarbonatlösung unter pH \approx 4,2 zu senken. Gleichung 13 zeigt die Dissoziation der zweiprotonigen Bernsteinsäure ($C_4H_6O_4$):



1,00 g Bernsteinsäure stellt erfahrungsgemäß für das Messvolumen von etwa 200 mL einen deutlichen Überschuss dar, um eine starke Absenkung des pH-Wertes zu erreichen. So konnte das Natriumhydrogencarbonat zum Salz der Bernsteinsäure (Succinat) umgesetzt werden und Kohlenstoffdioxid ausgasen. [22] Die Lösung hatte auf Grund der großen Menge $C_4H_6O_4$ immer noch sauren Charakter.

Das Gleichgewicht der Dissoziation von Carbonationen wurde durch Senkung des pH-Milieus verschoben, wodurch CO_2 gebildet wurde und vom Kohlenstoffdioxid-Sensor gemessen werden konnte. Abbildung 6 zeigt die Abhängigkeit der Carbonationen vom pH-Wert:

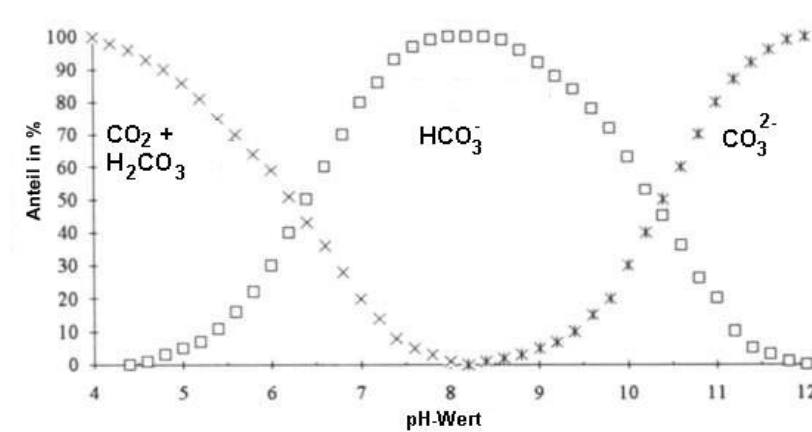


Abbildung 6: Abhängigkeit des Anteils an $CO_2/HCO_3^-/CO_3^{2-}$ vom pH-Wert [20]

3.2 Multiparameter-Messungen

Die als Multiparameter-Messungen bezeichneten Versuche wurden alle ähnlich aufgebaut, unterschieden sich allerdings hinsichtlich der veränderten Parameter. Getestet wurden Bäcker-, Bier- und Brauhefezellen. Für Bierhefe wurden jeweils 10,00 g getrockneten Flocken verwendet, wohingegen für Brauhefe 35 mL wässrige Suspension und für Bäckerhefe 5,00 g Presshefe eingesetzt wurden. Die Versuche wurden in einer Messzelle mit ca. 500 mL Fassungsvermögen durchgeführt, die auf 11° C, 25° C (Raumtemperatur) oder 37° C temperiert wurde. Das Flüssigkeitsvolumen betrug jeweils etwa 350 mL. Einige Lösungen wurden gerührt, um eine gleichmäßige Anströmung der Sensoren zu erzielen und Messergebnisse von geringer Schwankung aufnehmen zu können. Andere Ansätze wurden dagegen, wie tatsächlich beim Bierbrauen üblich, nicht gerührt. Durch Rühren würden hingegen unerwünschte Nebenprodukte der Ethanolgärung entstehen. [13] Darüber hinaus wurde die Abhängigkeit der Parameter unter Einsatz von destilliertem Wasser oder Leitungswasser getestet. Ob Unterschiede im Vergleich

von Gärbottichen und zylindrokonischen Tanks auftraten, wurde mit Hilfe von zwei Messzellen in Form von einem breiten und einem schmalen zylindrischen Messgefäß nachvollzogen.

Die Elektroden und Sensoren wurden an unterschiedlichen Stellen in der Lösung platziert, um mögliche Veränderungen der Produktkonzentrationen zu ermitteln. Über die Öffnungen im Deckel der Zelle wurden die pH- und Redox-Elektrode, Ch-pH-01 und Ch-Redox-13 und Sauerstoff- sowie Kohlenstoffdioxid-Sensor, O₂-Nr. 62 und CO₂-Nr. G21, in die Flüssigkeit getaucht (siehe Abbildung 7):



Abbildung 7: Messaufbau der Multiparameter-Messungen

Diese Zellen wurden mit unterschiedlich konzentriertem Substrat aus wässriger Haushaltszuckersuspension oder Würzlösung versorgt. Haushaltszucker (Saccharose) setzt sich aus Mono- und Disacchariden zusammen und hat die Summenformel $C_{12}H_{22}O_{11}$. Die von der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei Berlin zur Verfügung gestellte Würzlösung enthält dagegen vor allem Malzzucker (Maltose), Eiweiße, Vitamine und Aromastoffe in wässriger Lösung. Maltose hat ebenfalls die Summenformel $C_{12}H_{22}O_{11}$ und besteht aus zwei α -D-Glucosemolekülen, die von Amylase zu Einfachzuckern ($C_6H_{12}O_6$) abgebaut werden. Die Würzlösung wurde mit einer Massenkonzentration von 0,158 kg Würzextrakt sirup auf einem Liter destilliertem Wasser hergestellt. Für die Suspension der Saccharose wurden nach eigenem Ermessen entweder eine Portion von 38,5 g auf 350 mL Wasser eingerührt oder in mehreren Zugaben jeweils 13,81 g zu 350 mL Messvolumen aqua dest. oder Leitungswasser hinzugefügt. Die Nährstoffzugabe erfolgte entweder als einmalige Zugabe vor bzw. nach der Hefezellenzugabe oder aber in mehreren Portionen über einen längeren Zeitraum verteilt.

3.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ist sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyseverfahren, die zur Technik der Flüssig-Flüssig-Chromatographie zählt. Als physikalisches Verfahren zur Stofftrennung lassen sich mit ihrer Hilfe Substanzgemische analysieren, die in einem Lösemittel gelöst vorliegen und dessen Substanzen schwerflüchtig oder nichtflüchtig sind. Dabei wird die gelöste Probe von einer flüssigen Phase (Eluent) unter hohem Druck über die stationäre Phase in einer Trennsäule (feste Phase) transportiert. [18] Je nach Art der Wechselwirkung zwischen stationärer Phase, mobiler Phase und Probe kommt es zur Fraktion des Analyten. Der Trenneffekt beruht meist auf der unterschiedlichen Polarität von stationärer und mobiler Phase. Bei einer Normalphasen-HPLC, wie sie durchgeführt wurde, interagiert die polare stationäre Phase mit den polaren Molekülbereichen der Probe. Der Eluent Schwefelsäure ist unpolar und unterstützt nur dem Stofftransport. [19]

Abbildung 8 zeigt die Komponenten einer HPLC-Anlage in schematischer Darstellung:

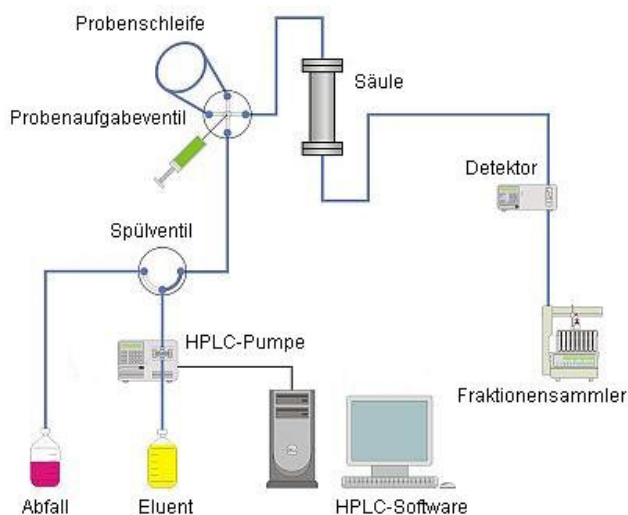


Abbildung 8: Schema einer HPLC-Anlage [18]

Die HPLC-Analyse diente der Reinheitskontrolle sowie der Bestimmung des Vergärungsgrades des Bieres. Außerdem waren Aussagen zu Restzucker- und Alkoholgehalt möglich, womit der Gärprozess kontrolliert werden konnte.

Die Trennsäule wurde auf 25° C temperiert und mit 0,01 M Schwefelsäure vorgespült. Die Probe wurde 1:200 verdünnt und 20 µL davon über das Injektionsventil in die Probenschleife gebracht. Das Eluent-Analyt-Gemisch wurde über eine gepackte Säule mit festgelegter Teilchengröße, Säulenpackung, Porenstruktur, Länge sowie festem Durchmesser geleitet. Das Füllmaterial der Säule war für die Wechselwirkung mit der zu analysierenden Probe verantwortlich. Diese wurde von den funktionellen Gruppen des Säulenmaterials adsorbiert, so dass eine anschließende Konzentrationsbestimmung mit Hilfe der Detektionseinheit möglich war. Als Detektor wurde ein Refraktometer verwendet, da diese Messeinheit spezifisch für

Stoffgemische mit einer Zuckerkomponente ist, aber auch sonst vielseitig für HPLC-Detektionen eingesetzt werden kann. Dieser Brechungsindex-Detektor misst die unterschiedliche Ablenkung bzw. Brechung des Lichtstrahls durch die Probe in der Messzelle im Vergleich zur reinen mobilen Phase in der Referenzzelle. Tritt der Lichtstrahl der Messeinheit durch das Gemisch, ändert sich der Brechungsindex im Vergleich zum Eluenten, mit welchem der Nullabgleich durchgeführt wurde. Die Änderung des Stromflusses bewirkt daraufhin einen Peak im Chromatogramm. Dieses wurde nach 17 minütiger Messung per Chromatographie-Software dargestellt. Mit Hilfe bekannter Standards aus einer bereits angelegten Bibliothek wurden die Ergebnisse verglichen. Die Verbindungen in der Probe konnten somit identifiziert werden. [19]

4 Ergebnisse und Auswertung

4.1 Kalibrierung CO₂-Sensor

Der Kohlenstoffdioxidssensor wurde bei 25° C mit zwei Natriumhydrogencarbonat-Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen kalibriert, die Messdaten wurden aufgezeichnet (siehe Anhang Tabelle 1) und im Anschluss mit Hilfe des Datenanalyseprogramms "Origin" graphisch ausgewertet. Die folgende Abbildung 9 zeigt die Kalibriergerade dieser Zwei-Punkt-Kalibrierung:

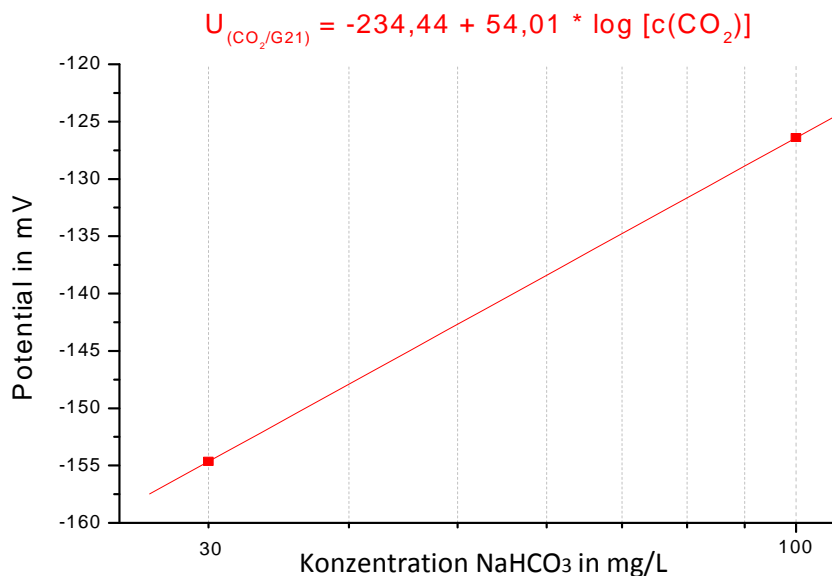


Abbildung 9: Kalibrierung CO₂-Sensor

In Abbildung 9 ist die Regressionsgerade für die Potentialmesswerte der NaHCO₃-Konzentrationen 30 mg/L und 100 mg/L (siehe Anhang, Tabelle 1) dargestellt. Dafür wurden die Potentialwerte gewählt, welche sich nach etwa zehn Minuten konstant einstellten. Bei einer Zwei-Punkt-Kalibrierung beträgt der Regressionskoeffizient immer 1, da die Messpunkte stets linear miteinander verbunden werden können. Diese gängige Form der Kalibrierung ist als Erstkalibrierung und zur Überprüfung der Steilheit des CO₂-Sensors gut geeignet, sollte jedoch in regelmäßigen Abständen überprüft werden, um die statistische Genauigkeit des Ergebnisses zu unterstützen.

Die ermittelte Geradengleichung lautete $U_{(CO_2/G21)} = -234,44 + 54,01 \cdot \log [c(CO_2)]$. Dabei gab der Wert von 54,01 mV pro Dekade die Elektrodensteilheit an. Diese leitete sich aus dem Produkt des Nernst-Faktors mit der Sensitivität der Elektrode ab. Die Steilheit (Gleichung 14) kann über die Differenz der konstanten Potentialwerte aus Messung 1 (mit $c = 30$ mg/L NaHCO₃) und Messung 2 (mit $c = 100$ mg/L NaHCO₃) durch die Differenz dieser logarithmierten Konzentrationen bestimmt werden:

$$\begin{aligned}
 F_{st} &= \frac{U_1 - U_2}{\log c_1 - \log c_2} \\
 &= \frac{(-154,66) - (-126,42)}{\log 30 \frac{mg}{L} - \log 100 \frac{mg}{L}} \\
 &= 54,01 mV / Dekade
 \end{aligned} \tag{14}$$

Demnach wurde die Sensitivität des CO₂-Sensors wie folgt berechnet (Gleichung 15):

$$\begin{aligned}
 U &= U_0 + S \cdot F_N \cdot \log[c(CO_2)] \\
 U &= -234,44 + 54,01 \cdot \log[c(CO_2)] \\
 54,01 mV &= S \cdot 59,16 mV \\
 S &= 0,913
 \end{aligned} \tag{15}$$

Die Steilheit 54,01 mV/ Dekade des Kohlenstoffdioxidsensors wich also mit 8,7 % vom Nernst-Faktor (59,16 mV/pH) ab. Die Elektrode besaß eine entsprechend gute Sensitivität, da sie innerhalb des in der Literatur [10] angegebenen Bereiches zwischen 0,85 und 0,98 lag.

4.2 Kalibrierungen von pH- und Redox-Elektrode

Die Durchführung der pH- und Redox-Kalibrierungen wurden in der dieser Bachelorarbeit vorangegangenen Praktikumsarbeit [7] detailliert beschrieben und zur nachfolgenden Überprüfung wieder angewendet.

Die Potentiale der pH-Elektrode Ch-pH-01 wurden jeweils etwa nach sechs bis acht Wochen erneut in Pufferlösungen der pH-Werte 4,01 sowie 6,86 und 9,18 gemessen und aufgezeichnet. Die neu festgestellten Werte wurden zu den vorherigen hinzugefügt und deren Entwicklung graphisch dargestellt. Die Tabelle 2 der konstanten Messwerte ist im Anhang zu finden. Abbildung 10 zeigt die Verschiebung der Messwerte dieser pH-Elektrode:

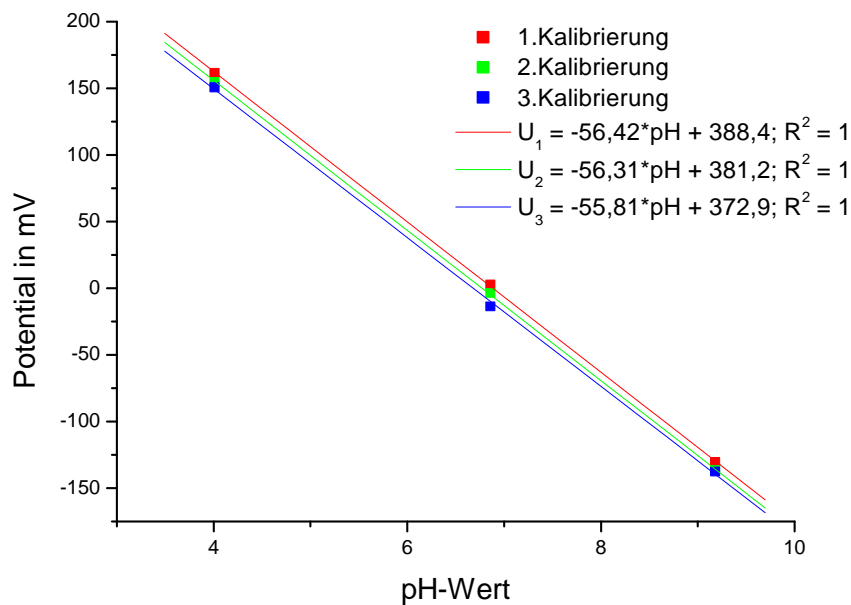


Abbildung 10: Kalibrierungen pH-Elektrode Ch-pH-01

Die erste Kalibrierung zu Beginn der Messungen ergab die Gleichung $U_1 = -56,42 \cdot \text{pH} + 388,4$ mit dem Bestimmtheitsmaß $R^2 = 1$. Die Steilheit der pH-Elektrode betrug 56,42 mV pro pH-Einheit, womit diese um 4,6% vom idealen Nernst-Faktor von 59,16 mV/pH bei 25° C abwich. Die Steilheit der zweiten Kalibrierung lag mit 56,31 mV/pH 4,8% unter dem theoretischen Faktor. Die Gleichung $U_2 = -56,31 \cdot \text{pH} + 381,2$ zeigte ebenfalls einen Korrelationskoeffizient von $R^2 = 1$. Kalibrierung Nummer drei mit der Gleichung $U_3 = -55,81 \cdot \text{pH} + 372,9$ und $R^2 = 1$ differierte mit einer Steilheit von 55,81 mV/pH geringfügig um 5,7%.

Die Steilheit der Elektrode sank mit zunehmendem Verwendungsalter lediglich um 0,61 mV/pH, was auf eventuelle Verschmutzung oder einer Adsorption der Hefezellen an der Glasmembran zurückzuführen ist. Dennoch wurden bei einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 1$ durchgängig konstante Werte gemessen, so dass der leichte Abfall der Elektrodensteilheit vernachlässigbar ist. Bei Umrechnung der gemessenen Potentialwerte zum jeweiligen pH-Wert wurde die aktuelle Kalibrierung zum Zeitpunkt der Messung zu Grunde gelegt und somit die Alterung berücksichtigt.

Die Überprüfung der Redox-Elektrode Ch-Redox-13 mittels Blutlaugensalzlösungen, Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat und Kaliumhexacyanoferrat(III), ergaben konstante Werte, die zusammen mit den vorherigen Potentialen graphisch dargestellt wurden. Die Tabelle 3 mit diesen Messwerten befindet sich im Anhang. Abbildung 11 zeigt, wie sich die Kalibriergeraden der Redox-Elektrode Ch-Redox-13 über den Messzeitraum veränderten:

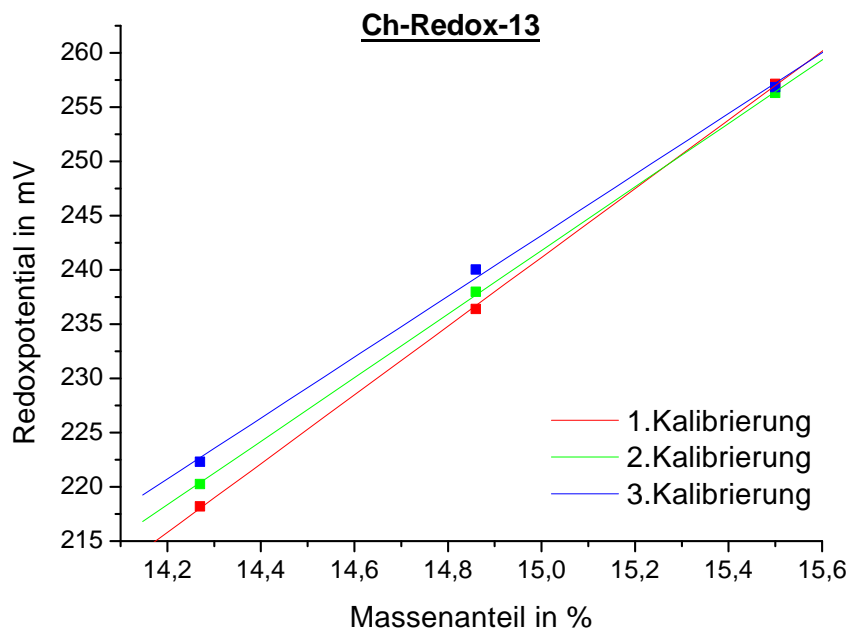
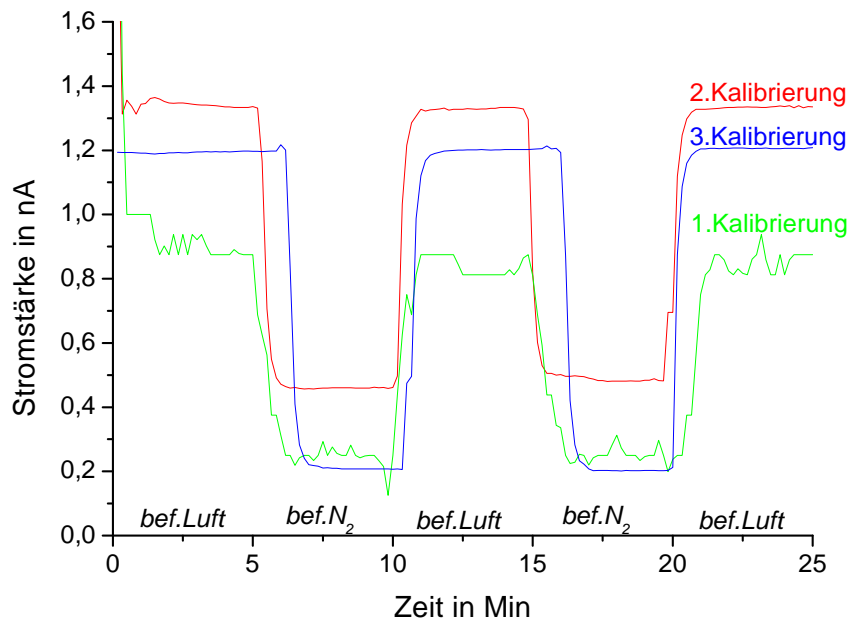


Abbildung 11: Überprüfungen Redox-Elektrode Ch-Redox-13

Die Kalibriergeraden der Redox-Elektrode Ch-Redox-13 zeigten bei erster bis dritter Überprüfung keine optimale Linearität. Der mittlere bzw. letzte Messwert wich jeweils von der ermittelten Regressionsgeraden ab. Auch das ist auf die Alterung der Elektrode zurückzuführen. Durch Ablagerungen am Diaphragma der Referenz-Elektrode oder am Platindraht der Redox-Elektrode kann es zu geringfügigen Abweichungen kommen. Sowohl bei der Referenz- als auch bei der Redox-Elektrode sollte eine regelmäßige Kontrolle der Potentialwerte erfolgen.

4.3 Kalibrierung des Sauerstoff-Sensors

Der Sauerstoff-Sensor Nr.62 wurde überprüft, indem ein feuchter Gasstrom über den Sensor geleitet wurde. Von wasserdampfgesättigter Luft überströmt, konnte ein Stromfluss gemessen werden. Bei Einwirkung von Inertgas (N_2) auf die Sensormembran fand keine Redoxreaktion statt, so dass nur eine sehr geringe Stromstärke, der sogenannte Nullstrom des Sensors, gemessen wurde. Abbildung 12 stellt die aufgezeichneten Kurvenverläufe dar, die dazugehörigen Messwerte befinden sich im Anhang Tabelle 4:



O₂-Sensor Nr.62: U_p = -800 mV, 3-Elektrodenanordnung, 25° C

Abbildung 12: Vergleich der Kalibrierungen des Sauerstoff-Sensors Nr.62

Der Sensorstrom war abhängig vom Sauerstoffpartialdruck und der temperaturabhängigen Sauerstoffsättigungskonzentration. Das Diagramm zeigte die erste, zweite und dritte Kalibrierung des Sauerstoff-Sensors. Zu erkennen war, dass dieser bei erster Kalibrierung leichte Schwankungen zeigte. Es ist nicht unüblich, dass dies während der ersten Betriebsstunden des Sensors auftritt. Die Membran des Sauerstoffsensors sollte für die Kalibrierung trocken sein, da sonst die Diffusion des Gases erschwert wird. Weitere mögliche Ursachen für diese Schwankungen waren eine ungenügende Mindestanströmung oder das unzureichende Vorquellen der Sensormembran. Erst über einen Messzeitraum von zwei bis drei Monaten lieferte dieser gleichbleibende Ergebnisse (vgl. Kalibrierungen 2 und 3). Jedoch nahm die Stromstärke von zweiter zur dritten Kalibrierung um etwa 0,2 nA ab. Die Verschiebung der Kurven kann unter anderem an der Querempfindlichkeit solcher Messsysteme gegenüber anderen Gasen im Bier, wie CO₂, liegen. Diese Gase beeinflussten die Messergebnisse sowie die Lebensdauer über längeren Zeitraum negativ. Durch den Einsatz von Mikroorganismen in der Probelösung könnte sich überdies ein Biofilm auf der Membran gebildet haben.

4.4 Multiparametermessungen

4.4.1 Einfluss verschiedener Hefearten

Das folgende Diagramm zeigt drei verschiedene Hefearten, die in jeweils drei Reaktionsansätzen nach zehn Minuten zur Würzlösung hinzugegeben wurden. Dabei wurden 5,00 g Bäckerhefe, 10,00 g Bierhefe oder 35 mL Brauhefe zugegeben. Das pH-Potential wurde immer über 20 Stunden, bei 11° C, ohne Rühren der Lösung aufgezeichnet und über die

Geradengleichung der aktuellen Kalibrierung in den entsprechenden pH-Wert umgerechnet. Der Kurvenverlauf von Abbildung 13 zeigt die Veränderungen des pH-Wertes durch die in der Suspension vorliegende Hefeart und ihren Stoffwechsel:

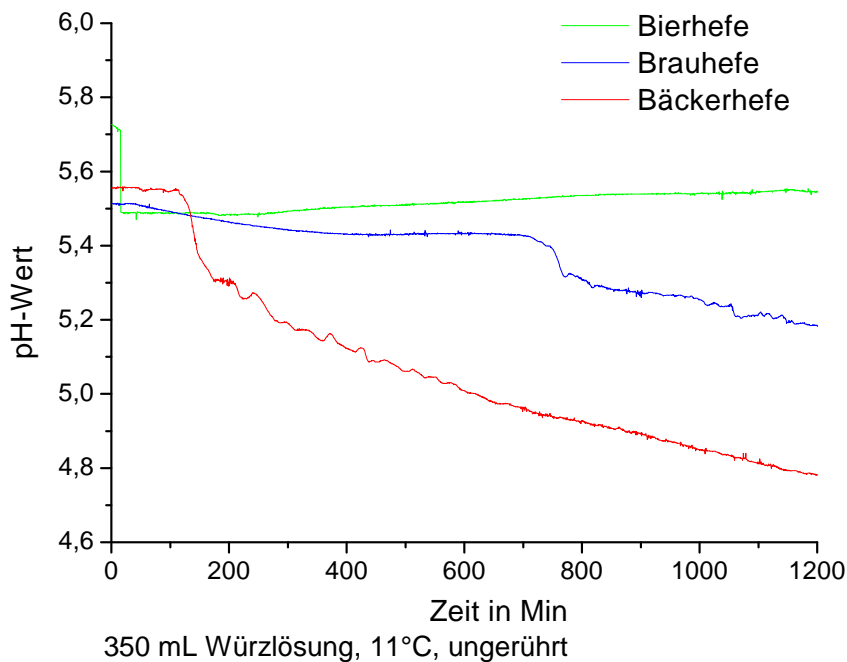


Abbildung 13: pH-Messung in verschiedenen Hefesuspensionen

Gemessen mit pH-Papier lag der pH-Wert der Würzlösung meist in einem Bereich zwischen 5 und 6. Die Anfangswerte der pH-Messungen bestätigten diese Spannweite größtenteils. Zu kleinen Veränderungen kam es lediglich durch längere Lagerung der fertig zubereiteten Würzlösung im Kühlschrank oder durch nicht ausreichendes Vermischen (Schütteln) der Lösung zu Beginn. Aus diesen Gründen lassen sich geringfügige Abweichungen der anfänglichen pH-Werte erklären. Auch die Zugabe von Hefezellen als Flockenpräparat, als gepressten Hefewürfeln mit geringer Restfeuchte oder als Suspension beeinflusste den pH-Wert minimal. Die Tendenz zu einer Veränderung des pH-Milieus in Richtung eines Wertes um 4 bis 5 war dennoch bei allen Versuchen einheitlich zu beobachten.

In diesem Diagramm (Abbildung 13) ist zu erkennen, dass die Brauhefe und Bäckerhefe bei einem pH-Wert um 5,5 starteten. Die Bierhefe startete, mutmaßlich auf Grund weiterer in dieser Nahrungsergänzung enthaltener Zusätze, die den pH-Wert geringfügig anhoben, bei 5,8. Die Bierhefe bewirkte mit 0,3 Einheiten ebenso wie die Brauhefe eine geringe Absenkung des pH-Wertes, wohingegen die Bäckerhefe mit 0,7 Einheiten einen größeren Einfluss auf diesen Parameter nahm. Der Endwert der Würzlösung mit Bierhefe lag etwa bei pH = 5,5, während dieser bei Brauhefe ungefähr 0,3 Einheiten darunter bei pH = 5,2 gemessen wurde. Die Bäckerhefesuspension erreichte einen pH-Wert von 4,8. Der Kurvenverlauf der Bierhefe ließ auf eine Pufferwirkung der Zusätze schließen, weshalb auf umfangreiche weitere Versuche mit dieser Hefeart verzichtet wurde.

Die Verringerung des pH-Wertes resultierte, wie in Kapitel 2 bereits beschrieben, aus der Vergärung von Zucker zu CO_2 , welches die Würzlösung ansäuerte. Je mehr Kohlenstoffdioxid produziert wurde, desto mehr verschob sich das Gleichgewicht in Richtung der Wasserstoffionen in der Lösung (siehe Abbildung 14). Dass die Bäckerhefe die größte Menge Zucker vergärt, wurde bereits anhand des Diagramms (Abbildung 13) sichtbar, da der pH-Wert die stärkste Erniedrigung zeigte. Die CO_2 -Konzentration stieg bei dieser Reaktion am schnellsten. Die Konzentrationszunahme der Gärungsprodukte durch Brauhefe erfolgte dagegen deutlich langsamer. Jedoch ließ die graphische Auswertung (Abbildung 13) erkennen, dass diese Hefe keine Temperaturanpassung benötigte und auch den zur Verfügung stehenden Malzzucker besser vergären konnte als die Bäckerhefe, deren Reaktion deutlich verzögert einsetzte.

Dieser Unterschied erklärt allgemein die verschiedenen Einsätze von Hefen für ober- oder untergärige Biersorten. Wie bereits in den Grundlagen erklärt, benötigt Hefe für obergäriges Bier keine tiefen Temperaturen. Die Gärungsreaktion erfolgt schneller, das Bier wird als spritziger beschrieben (mehr CO_2 , tieferer pH-Wert) und ist nach vollendeter Gärzeit bereits trinkbar. Im Gegensatz dazu benötigt untergäriges Bier kühlere Fermentationstemperaturen, hat nur eine geringe pH-Abnahme und muss deshalb etwa vier Wochen nachgelagert werden.

Die Beobachtung der Abhängigkeit der beiden Parameter pH-Wert und Kohlenstoffdioxidkonzentration soll anschließend in einem Diagramm geprüft werden. Deshalb wurden die Werte der pH-Messung (vgl. Abbildung 13) gegen die dazugehörigen CO_2 -Konzentrationen, die ebenfalls gemessen wurden, in Abbildung 14 aufgetragen:

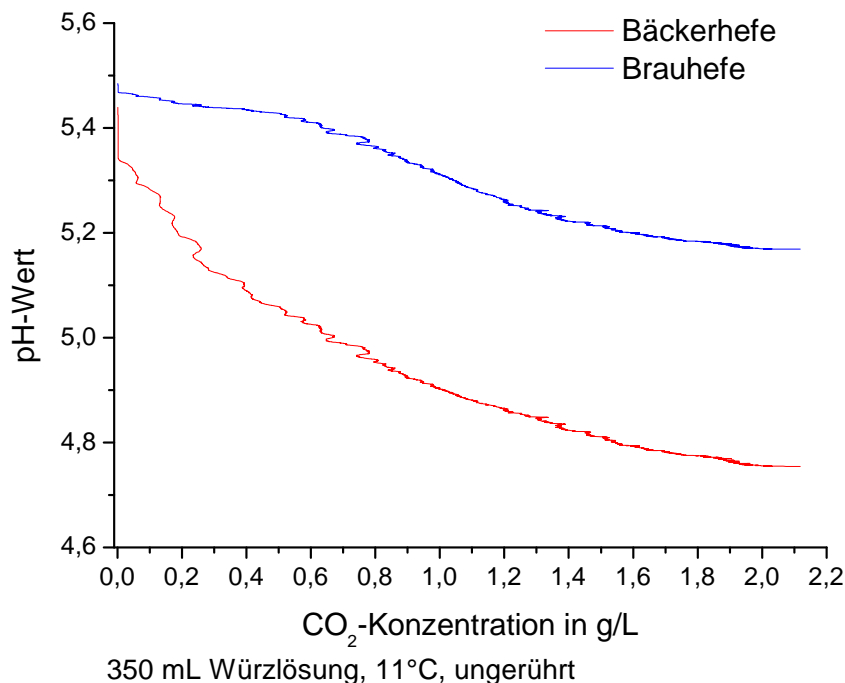


Abbildung 14: Abhängigkeit des pH-Wertes von der CO_2 -Konzentration in zwei verschiedenen Hefesuspensionen

Die Bäckerhefe startete im Vergleich zur Brauhefe bei einem höheren pH-Wert von 5,55. Durch die Bildung von beispielsweise 2,1 g/L CO_2 erreichte die Lösung einen Wert von $\text{pH} = 4,8$. Die Brauhefe verringerte den pH-Wert der Würzlösung um nur 0,3 Einheiten von $\text{pH} = 5,5$ auf $\text{pH} = 5,2$ bei einer CO_2 -Konzentrationserhöhung auf 2,1 g/L.

Wie bereits vermutet wurde, hatte die Zunahme der Kohlenstoffdioxidkonzentration eine Absenkung des pH-Wertes zur Folge. Es bestand eine direkte Abhängigkeit zwischen pH-Wert und CO_2 -Konzentration.

In Abbildung 15 sind die parallel zum pH-Potential aufgezeichneten Kurven der Redox-Messungen dargestellt. Die Reaktionsbedingungen waren dieselben, wie die der pH-Aufzeichnungen. Die Redoxpotentiale der Lösungen wurden ohne Umrechnung im Diagramm (Abbildung 15) verdeutlicht:

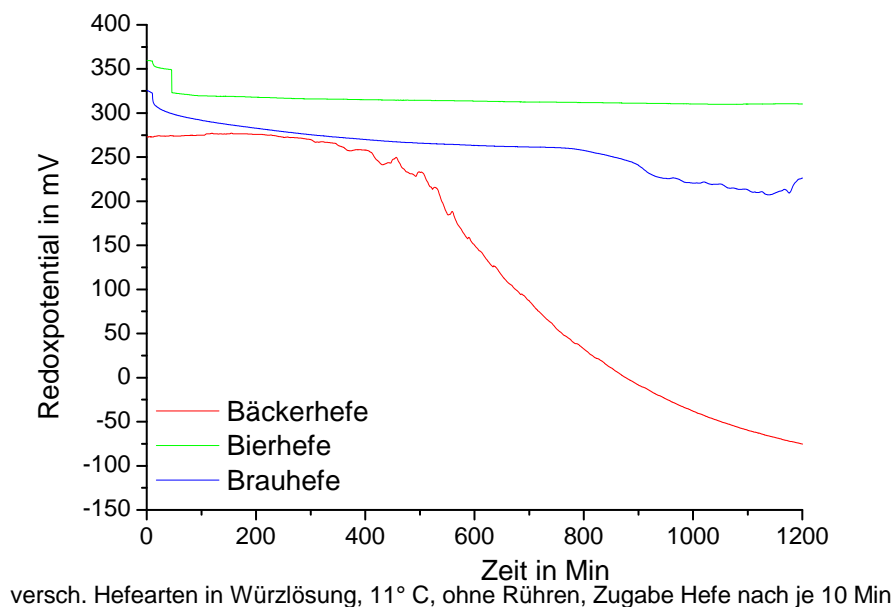
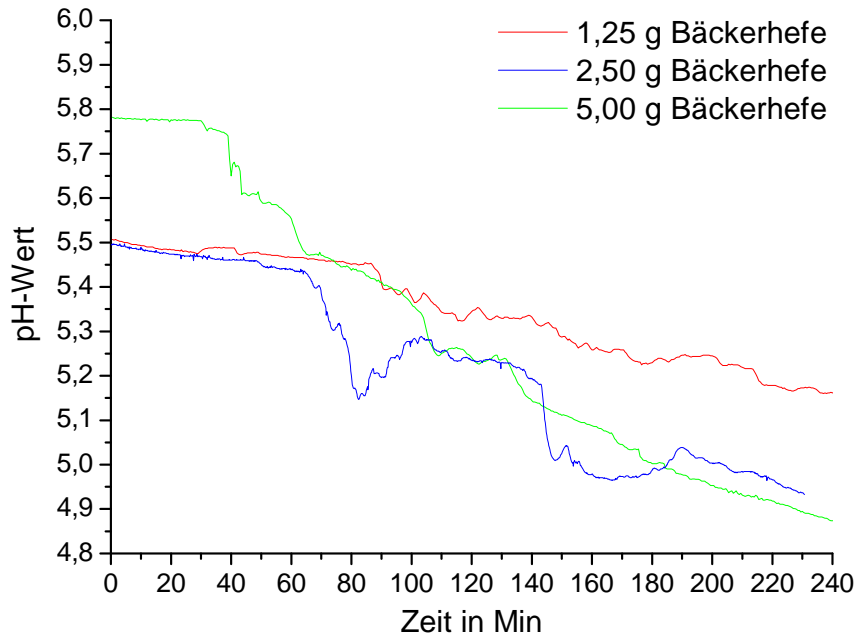


Abbildung 15: Redoxpotentialmessung in verschiedenen Hefesuspensionen

Das Redoxpotential ist ein Standardwert und Summenparameter, der Auskunft über oxidierende sowie reduzierende Inhaltstoffe in der Probelösung gibt. Je größer die anfängliche Konzentration oxidierender Stoffe, wie beispielsweise Sauerstoff, war, desto höher lag auch das zeitweilige Redoxpotential. Dieses nahm durch die Zunahme reduzierend wirkender Reaktionsprodukte ab. Höchsten Ausgangs- und auch Endwert hatte dabei die Bierhefe in Würzlösung, was wiederum auf die Pufferwirkung der Zusatzstoffe schließen ließ. Die Aufzeichnung startete bei 360 mV und endete bei 310 mV. Die Bäckerhefe zeigte den größten Potentialsprung von 273 mV auf -75 mV, die Brauhefe veränderte das Redoxpotential von 326 mV auf 226 mV. Die Korrelation von pH- und Redox-Diagramm zeigt die Abhängigkeit des Redoxpotentials vom pH-Wert sowie der Sauerstoffkonzentration der Lösung.

4.4.2 Einfluss unterschiedlicher Massen einer Hefeart

In nachfolgender Abbildung 16 ist die Veränderung des pH-Wertes der Würzlösung mit Bäckerhefe in unterschiedlicher Ausgangsmasse dokumentiert:



350 mL Würzlösung, Raumtemperatur, ohne Rühren

Abbildung 16: Verlauf des pH-Wertes bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen

Der Versuchsaufbau mit 5,00 g Bäckerhefe führte zu einem höheren Anfangs-pH-Wert als die kleineren Massen Hefe, allerdings war die Senkung des pH-Wertes bei dieser Versuchsdurchführung auch am stärksten. Der pH-Wert änderte sich von pH = 5,8 bis hin zu pH = 4,9 nach vier Stunden. Es war jedoch auch erkennbar, dass die große Zahl an Hefezellen nach 40 Minuten zu einem schnelleren Umsatz des Zuckers hin zum pH-senkenden Reaktionsprodukt Kohlenstoffdioxid führte. Der Stoffwechsel der 1,25 g Bäckerhefe veränderte den pH-Wert der Würzlösung um lediglich 0,3 Einheiten von pH = 5,5 auf pH = 5,2, was schlussfolgern ließ, dass wie erwartet im Vergleich die geringste Zuckermenge umgesetzt wurde. Eine deutlich erkennbare Reaktion setzte zudem erst nach etwa 90 Minuten ein. Die mittlere Hefemasse führte auch zu mittleren Ergebnissen sowohl bei der pH-Wert-Senkung von pH = 5,5 auf pH = 5,0 als auch bei der benötigten Anfangszeit von 70 Minuten. Die Kurve von 2,50 g Bäckerhefe schwankte stärker als die Kurven der anderen Massen, was auf ungleiche Verteilung der Zellen oder der Reaktionsprodukte zurückzuführen ist, da die Lösung nicht gerührt wurde und es deshalb zu Konzentrationsunterschieden kommen kann.

Zum Vergleich wurden die Veränderungen der Redoxpotentiale aller drei Bäckerhefemassen in Abbildung 17 aufgetragen:

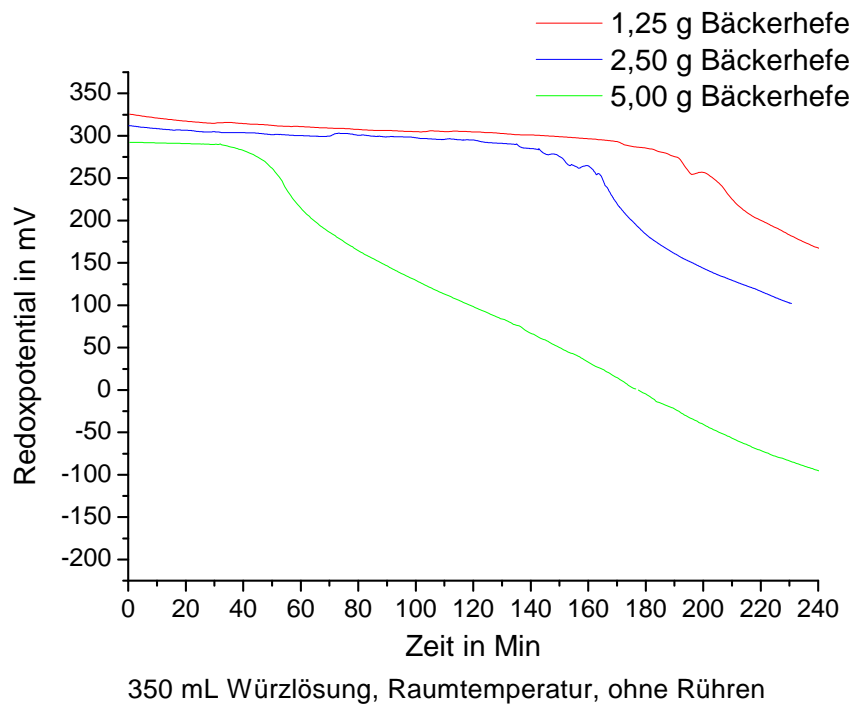
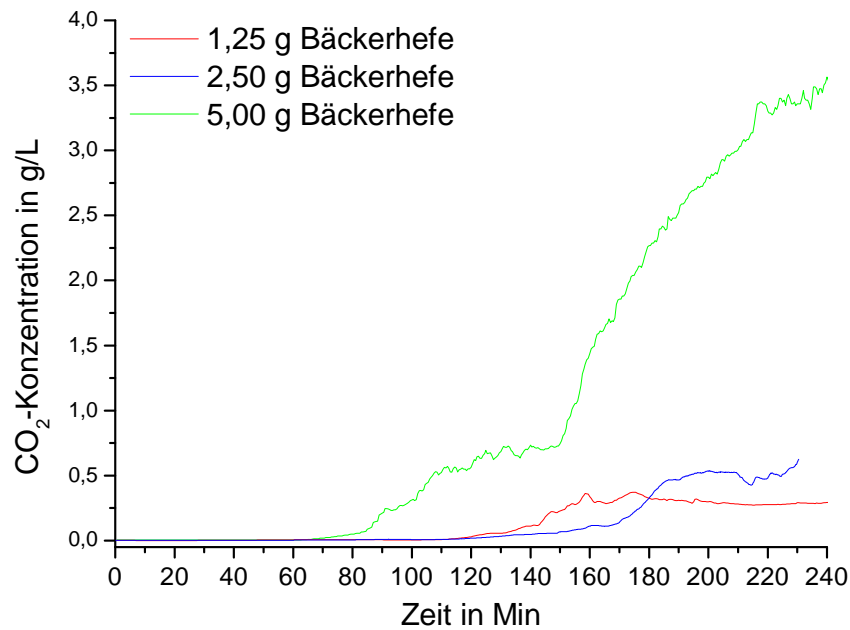


Abbildung 17: Verlauf des Redoxpotentials bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen

Die Kurven der Redoxpotentiale verliefen gleichmäßiger als die der pH-Werte. Ein deutlicher Unterschied trat beim Zeitpunkt der Veränderung der Redoxpotentiale von 1,25 g und 2,50 g Hefe auf. Nur die Kurve von 5,00 g Hefe reagierte wie beim pH-Diagramm (vgl. Abbildung 16) nach etwa 40 Minuten mit dem Abfallen der Potentialwerte, beide andere Hefemassen führten vorher geringfügig, jedoch erst nach 160 bzw. 200 Minuten zu einer markanten Änderung. Diese Verzögerung hatte ihre Ursache darin, dass die Alkoholfermentation ein durch Mikroorganismen katalysierter Prozess ist. Da mit 2,50 g und 1,25 g Bäckerhefe eine geringere Anzahl Hefezellen vorhanden war, konnte die Reaktionsgeschwindigkeit nicht so stark erhöht werden, wie beim Einsatz von 5,00 g Hefe. Allerdings unterschieden sich die Reaktionsgeschwindigkeiten der beiden geringeren Massen nicht mehr durch so große Zeitabstände voneinander. Das Redoxpotential von 2,50 g Bäckerhefe sank ab etwa 160 Minuten, während das Potential von 1,25 g nach 200 Minuten abfiel.

Die Kohlenstoffdioxid-Konzentrationen bei unterschiedlichen Hefemassen wurden gemeinsam mit pH- und Redox-Messwerten aufgezeichnet und werden in Abbildung 18 wiedergegeben:



350 mL Würzlösung, Raumtemperatur, ohne Rühren

Abbildung 18: Verlauf der CO₂-Konzentration bei unterschiedlichen Bäckerhefemassen

In Abbildung 18 sind die Zunahmen der Kohlenstoffdioxidkonzentrationen beim Einsatz dreier unterschiedlicher Hefemassen zu sehen. Wie zu erwarten war, produzierte die größte Zellmasse (5,00 g Bäckerhefe) auch die höchste CO₂-Konzentration von 3,6 g/L. Die beiden anderen Bäckerhefemassen lagen mit 0,6 g/L (2,50 g Bäckerhefe) und 0,3 g/L (1,25 g Bäckerhefe) CO₂ deutlich niedriger. Wie in den beiden vorangegangenen Abbildungen (16 und 17) bereits zu erkennen war, war der Umsatz des Malzzuckers zu Ethanol, Wasser und Kohlenstoffdioxid direkt von der Masse der Mikroorganismen abhängig, die diese Gärungsreaktion katalysierten. Trotz starkem Abfall des Redoxpotentials und deutlich höherem Anstieg der CO₂-Konzentration lag der erreichte pH-Wert der 5,00 g Bäckerhefe mit pH = 4,9 nicht deutlich unter dem Wert des Versuches mit 2,50 g Bäckerhefe. Es wird vermutet, dass ab einer bestimmten Zellzahl die Fermentation gleich verläuft und nur die Reaktionsgeschwindigkeit unterschiedlich ist. Durch die Zugabe einer großen Anzahl Zellen wird die Reaktion nicht ausschließlich gefördert, sondern die Zellen hindern sich möglicherweise gegenseitig durch das kleine Volumen an ihren Stoffwechselprozessen. Letztendlich sind auch die Gärungsprodukte nicht unbegrenzt von den Hefezellen herstellbar, da eine natürliche Limitierung der Alkoholkonzentration stattfindet. Das entstehende Ethanol wirkt ab einer Konzentration von ungefähr 15% als Zellgift für die Hefezellen. [16]

4.4.3 Abhängigkeit der Messwerte von portionierter Zuckerzugabe

Die folgende Abbildung 19 zeigt die Veränderung der Parameter auf die portionsweise Zugabe einer definierten Menge Zucker zur Hefesuspension:

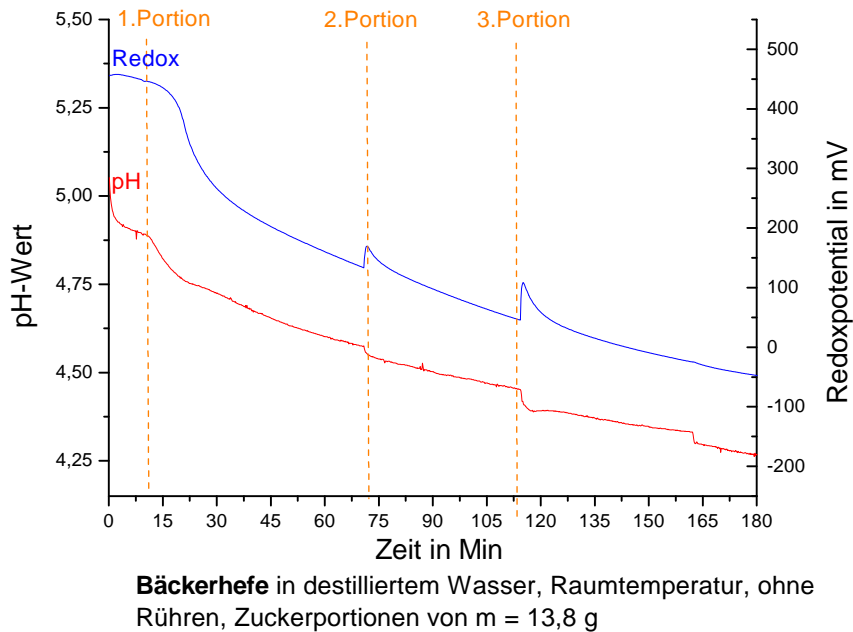


Abbildung 19: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Bäckerhefemediums (in aqua dest.) bei portionierter Zuckerzugabe

Das Redoxpotential der Hefesuspension startete bei etwa 450 mV, der pH-Wert lag zu Anfang bei $\text{pH} = 5,1$. Die portionierte Zuckerzugabe von 13,8 g zu einer Hefezellsuspension in destilliertem Wasser bewirkte im ersten Schritt eine Veränderung des Redoxpotentials und des pH-Wertes. Zum Zeitpunkt der zweiten und dritten Zugabe ließ sich bereits eine deutlichere Reaktion auf die Zuckerportion erkennen. Die deutlich ausgeprägten Spitzen der Redoxkurve zeigen an, dass die Zugabe des Haushaltszuckers die Redoxreaktion kurzzeitig in Richtung Ausgangsniveau verschob. Der pH-Verlauf zeigte dagegen eher eine stufenweise Absenkung. Zucker selbst reagierte nicht pH-Wert senkend, da diese Moleküle undissoziiert vorlagen. Die Reaktion der Gärung wurde demnach nur insofern beeinflusst, dass die Ausgangskonzentration des Zuckers in der Hefesuspension erhöht wurde. Diese Zugabe nahm jedoch keinen direkten Einfluss auf die Produktion von Ethanol und CO_2 , da noch genügend Zucker vorlag. Wahrscheinlich entstanden die pH-Wert-Stufen nach zweiter und dritter Portion deshalb, weil die Zuckerzugabe eine Umwälzung der Lösung verursachte. Dadurch wurden die Inhaltsstoffe vermischt und der pH-Wert der Flüssigkeit sank ab. Während das Redoxpotential einen Endwert von -50 mV erreichte, wurde der pH-Wert um 0,85 Einheiten auf $\text{pH} = 4,25$ herabgesetzt.

Um zu vergleichen, wie diese Reaktion in anderem Wasser ablief, wurde der Versuch anschließend in einer Bäckerhefesuspension mit Leitungswasser durchgeführt. Abbildung 20 zeigt die Unterschiede zur vorherigen Durchführung (vgl. Abbildung 19):

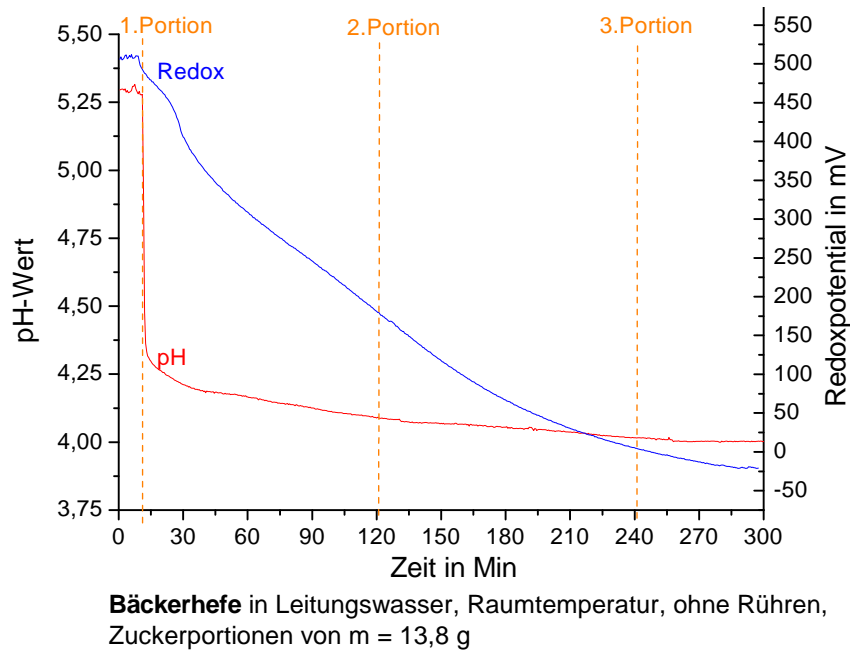
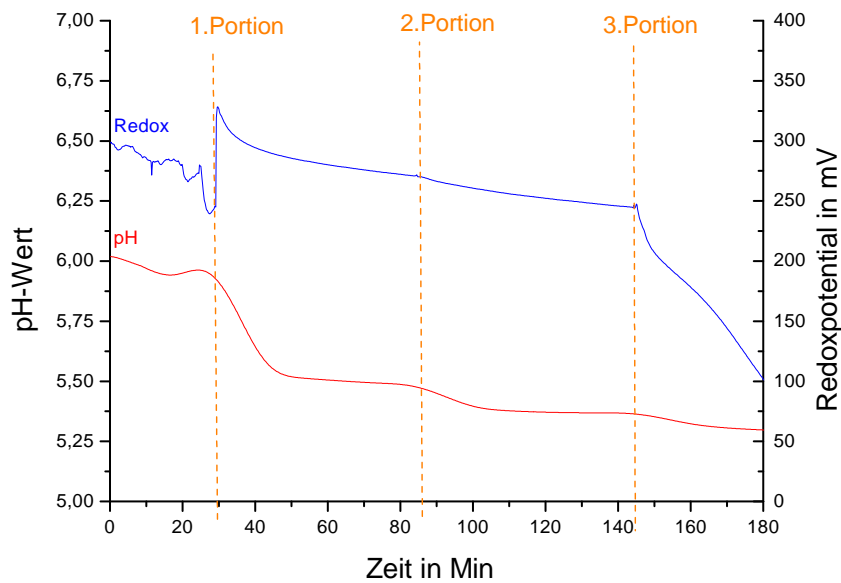


Abbildung 20: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Bäckerhefemediums (in Leitungswasser) bei portionierter Zuckerzugabe

Das vergleichbar hohe Redoxpotential von 525 mV in Abbildung 20 konnte gemessen werden, da das Leitungswasser im Gegensatz zum destillierten Wasser redoxaktive Metall-, Chlorid-, Sulfat- und Carbonationen enthielt. Das Potential sank dadurch unbeeinflusst von der zweiten und dritten Zuckerzugabe auf einen Wert von -25 mV. Vermutlich wirkten die zusätzlichen Ionen ebenfalls auf das Redoxgleichgewicht der Reaktion, so dass keine Spitzen wie in Abbildung 19 im Verlauf der Redoxkurve auftraten. Auch der pH-Kurvenverlauf zeigte in diesem Versuch einen sichtbaren Abfall von $\text{pH} = 5,3$ auf $\text{pH} = 4,4$ und weiterhin bis auf $\text{pH} = 4,0$ um 1,3 Einheiten. Redoxpotential und pH-Wert reagierten bei Leitungswasser insgesamt stärker auf den zugegebenen Zucker und damit auf die stattfindenden Stoffwechselvorgänge als bei destilliertem Wasser. Die weitere Zuckerzugabe selbst hatte keine sichtbare Veränderung zur Folge. Für den markanten Abfall des Redoxpotentials ist der Stoffwechselvorgang der Hefezellen nach erster Zuckerzugabe verantwortlich.

Im Anschluss an die eben beschriebenen Versuche wurde das Verhalten einer anderen Hefeart unter gleichen Reaktionsbedingungen getestet. Zuerst wurde die Brauhefe in destilliertem Wasser suspendiert, anschließend wurde dieses wieder durch Leitungswasser ersetzt. Den Verlauf von pH- und Redox-Messung in aqua destillata gibt Abbildung 21 wieder:



Brauhefe in destilliertem Wasser, Raumtemperatur, ohne Rühren, Zuckerportionen von $m = 13,8 \text{ g}$

Abbildung 21: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Braudefemediums (in aqua dest.) bei portionierter Zuckerzugabe

In Abbildung 21 ist zu erkennen, dass sich die Messwerte der Brauhefe in destilliertem Wasser deutlich von denen der Bäckerhefe unterscheiden. Da die Braudefeprobe der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei Berlin bereits zu Gärungsreaktionen verwendet und nach der Produktion in einer gepufferten Ruhelösung aufbewahrt wurde, war nicht bekannt, welche Zusätze darin enthalten waren. Der hohe Startwert des pH-Milieus von $\text{pH} = 6,0$ ließ auf eine Pufferlösung schließen. Der pH-Wert verringerte sich nach drei Stunden auf $\text{pH} = 5,3$. Das Redoxpotential sank bereits vor Zuckerzugabe von 270 mV auf 240 mV. Bei Hinzufügen des Haushaltszuckers erreichte es noch einmal ein Maximum von 320 mV, bis es nach der dritten Portion Saccharose auf 100 mV abfiel.

In Abbildung 22 ist die Messung von Brauhefe in Leitungswasser dargestellt. Die Messdaten der Elektroden zeigten vom Erfahrungswert abweichende Ergebnisse:

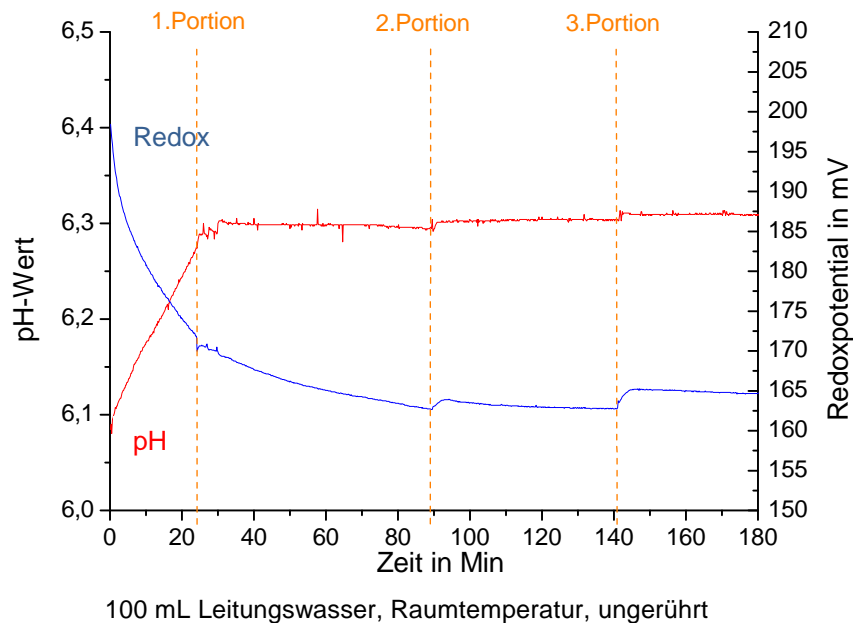


Abbildung 22: Verlauf des pH-Wertes und Redoxpotentials eines Brauhefemediums (in Leitungswasser) bei portionierter Zuckerzugabe

Dieser Versuch hatte den höchsten gemessenen Anfangs-pH-Wert mit 6,10. Verglichen zu den drei Messungen, dargestellt in Abbildungen 19, 20 und 21, konnte vorher nur ein geringes Anfangspotential der Redox-Elektrode bei 198 mV gemessen werden. Es waren also weniger oxidierende Inhaltsstoffe vorhanden als in den anderen Reaktionsmedien. Nach der ersten Portion Saccharose sank das Redoxpotential der Lösung auf etwa 163 mV, allerdings stiegen die Werte nach zweiter und dritter Zuckerzugabe wieder bis auf 165 mV an. Auch der Verlauf der pH-Wert-Kurve wich von den Kurven anderer Messungen ab. Zuerst stieg der Wert von pH = 6,1 auf pH = 6,3 an. Nach jeder Zugabe des Zuckers war eine Reaktion der pH-Elektrode sichtbar, der pH-Wert stieg jedoch ab der zweiten Portion Haushaltszucker nur noch geringfügig an. Vermutlich wurden diese abweichenden Ergebnisse davon verursacht, dass vor Entnahme des Volumens an Brauhefzellen aus dem Aufbewahrungsgefäß nicht auf eine homogene Durchmischung dieser Suspension geachtet wurde. Die oben schwimmenden Zellen zeigten keinerlei Aktivität mehr. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelte es sich nur noch um abgestorbene Hefezellen. Der in Abbildung 22 gezeigte Datenverlauf deutet darauf hin, dass die Zuckerzugabe Veränderungen der pH- und Redoxpotentiale verursachte, aber die Gärungsreaktion nicht stattfand.

4.4.4 Einfluss der Masse an eingesetztem Zucker

Abbildung 23 zeigt den Einfluss einer Zuckerzugabe von 1,73 g auf pH-Wert, Redoxpotential und Sauerstoffrate in der Bäckerhefesuspension:

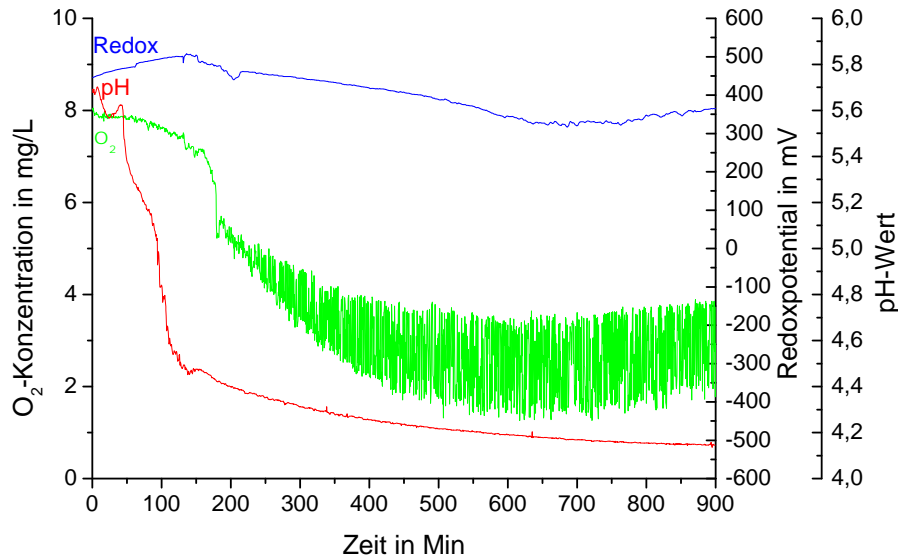


Abbildung 23: Einfluss einer Zuckerzugabe von $m = 1,73$ g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium

Bei dieser Messung (Abbildung 23) startete der pH-Wert bei 5,6 und sank innerhalb von 15 Stunden auf $\text{pH} = 4,2$. Diese Kurve gibt den typischen Verlauf des pH-Milieus während des Gärprozesses wieder. Das Redoxpotential sank im Vergleich nicht so markant von 450 mV auf 350 mV. Allerdings zeigte sich nach etwa 150 Minuten ein Maximalwert von 500 mV und nach 700 Minuten ein Minimalwert von 300 mV. Der Sauerstoffsensor detektierte eine Anfangskonzentration von 8 mg/L, was bei Raumtemperatur ungefähr der Sättigungskonzentration in Wasser entspricht, und eine Endkonzentration von ca. 2 mg/L. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Gärungsreaktion sehr schnell einsetzte, da der pH-Wert auf Grund der CO_2 -Produktion direkt nach 60 Minuten steil abfiel. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte die Zugabe der Hefezellen.

In Abbildung 24 ist der Einfluss auf pH-Wert, Redoxpotential und Sauerstoffkonzentration in der Bäckerhefesuspension bei einer Zuckerzugabe von 3,45 g dargestellt:

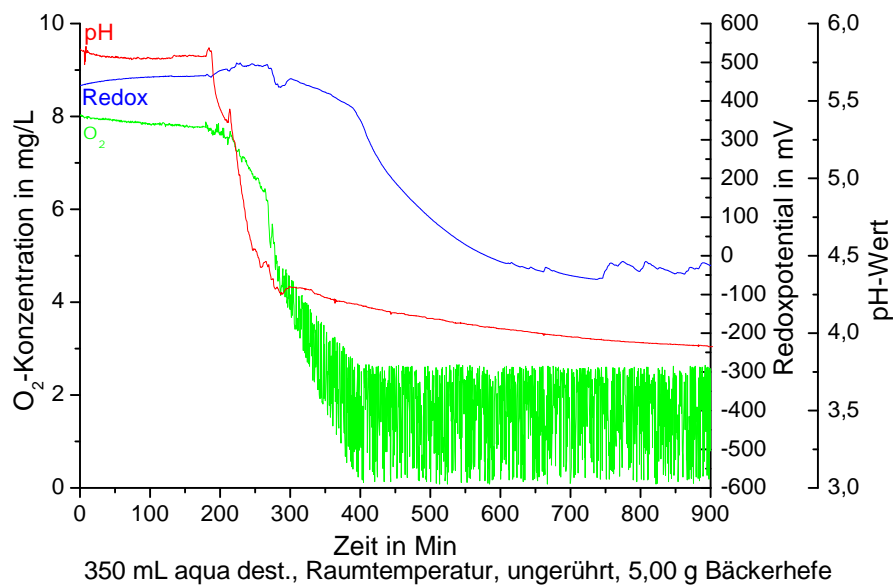


Abbildung 24: Einfluss einer Zuckerzugabe von $m = 3,45$ g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium

Der Kurvenverlauf von pH-Wert und Sauerstoffkonzentration in Abbildung 24 ähnelt dem Verlauf in Abbildung 23, da diese beiden kleinen Zuckerportionen rasch von den Hefezellen abgebaut werden. Allerdings zeigt das Redoxpotential einen deutlicheren Abfall. Die Kurve startete bei einem Potential von 450 mV und endete bei 0 mV. Nach ungefähr vier Stunden hatte sie wie in Abbildung 23 ein Maximum bei 500 mV erreicht. Was zeigte, dass Elektronentransferprozesse deutlich langsamer als die Reaktionen beim Protonentransfer verlaufen. [3] Der pH-Wert der Bäckerhefesuspension lag zu Beginn bei $\text{pH} = 5,8$. Die Lösung hatte nach 15 Stunden einen niedrigen pH-Wert von 4,0. Der Verlauf der Sauerstoffkonzentration von 8 mg/L bis auf 0 mg/L war wie erwartet. Im Gegensatz zur kurzen Reaktionszeit in Abbildung 23 startete die Gärung in Abbildung 24 erst nach insgesamt 200 Minuten. Die Zellen wurden ebenfalls nach 60 Minuten Messung dazu gegeben, so dass die Fermentationsprodukte erst nach über zwei Stunden Auswirkungen auf die pH-Werte erkennen ließen. Als Ursache kann hier wiederum die Inhomogenität der Lösung durch fehlendes Rühren genannt werden. Die Gärung fand möglicherweise bereits früher statt, konnte aber mangels Durchmischung erst später detektiert werden.

Der Einfluss von 13,81 g Zucker auf pH-Wert, Redoxpotential und Sauerstoffkonzentration der Bäckerhefesuspension wird in Abbildung 25 wieder gegeben:

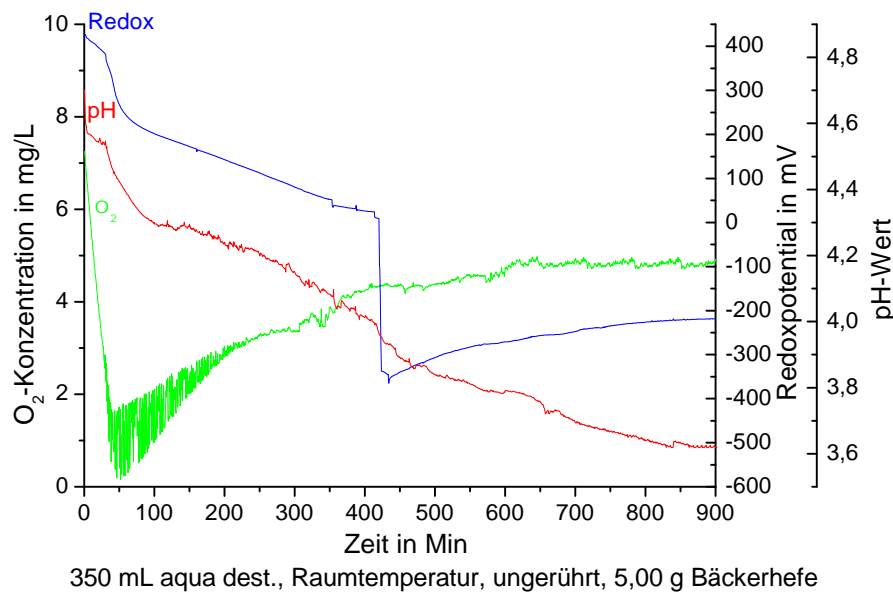
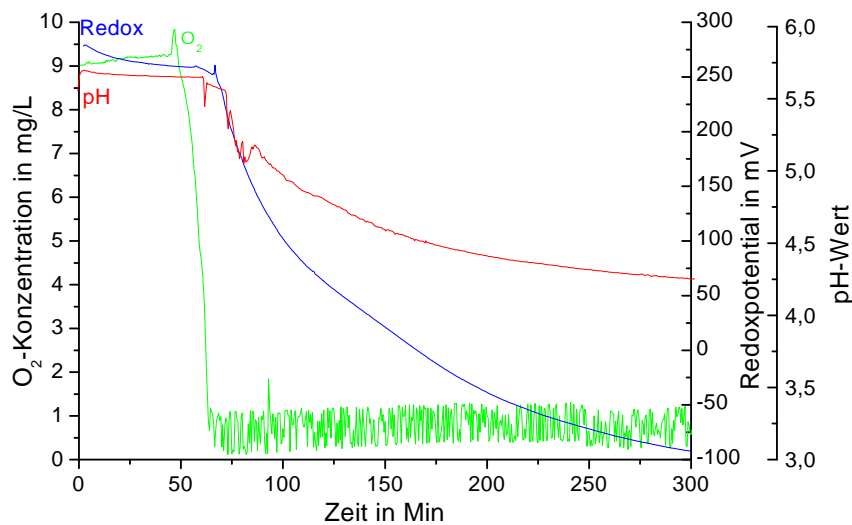


Abbildung 25: Einfluss einer Zuckerzugabe von $m = 13,81$ g auf die gemessenen Parameter im Bäckerhefemedium

Der pH-Wert sank nach 30 Minuten bei der Zuckerzugabe von pH = 4,7 auf pH = 3,6. Zu diesem Zeitpunkt stieg die zuvor von 7 mg/L auf fast 0 mg/L gefallene Sauerstoffkonzentration wieder an. Nach 900 minütiger Messung wurde eine O₂-Konzentration von 5 mg/L festgestellt. Das Redoxpotential sank nach Hefezugabe von 450 mV auf -200 mV. Zusätzlich zum starken Absinken des Redoxwertes fiel dieser nach 400 Minuten sehr abrupt von 50 mV auf -350 mV. Diese Besonderheit und der ungewöhnliche Verlauf der Sauerstoffkonzentration ließen auf die Inhomogenität der Messlösung schließen, da diese nicht gerührt wurde. Durch Zugabe der großen Zuckerportion startete die Gärungsreaktion ohne Zeitverzögerung, erkennbar am Absinken der drei Parameter pH-Wert, Sauerstoffkonzentration und Redoxpotential zu Beginn.

4.4.5 Einfluss eines zylindrischen Messbechers

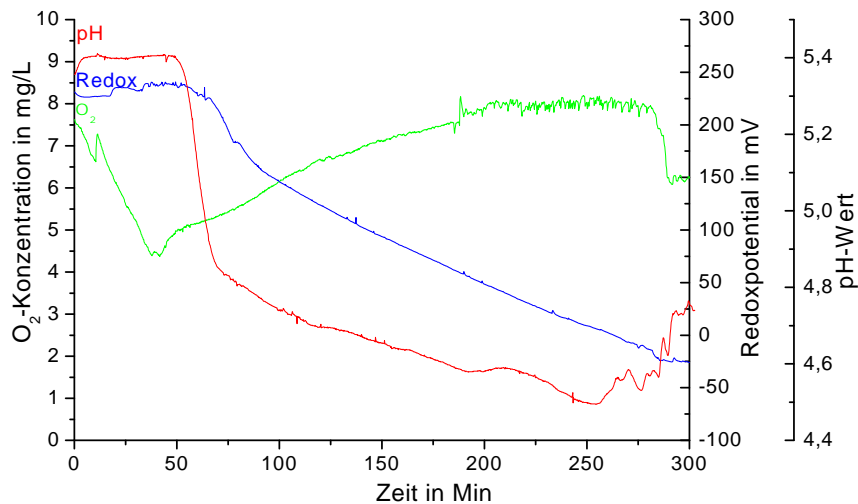
Um die Unterschiede zwischen der Messung in einem Gärbottich und einem zylindrokonischen Tank nachvollziehen zu können, wurde neben der bisher verwendeten temperierbaren Messzelle (ähnelt dem Gärbottich) eine schmale zylindrische Messzelle (ähnlich der Gärsäule) verwendet. Diese hatte eine Höhe von ca. 10 cm und einen Durchmesser von ca. 5 cm und wurde bis etwa 2,5 cm unter den Rand gefüllt. Redox- und pH-Potential sowie O₂-Konzentration wurden gemessen. Die Messfühler wurden einmal 1 cm unter der Flüssigkeitsoberfläche, das andere Mal 9 cm zum Gefäßboden hin eingetaucht. Zur genaueren graphischen Darstellung wurde eine Diagrammform mit drei vertikalen Achsen gewählt, da auf diese Weise neben dem Redoxpotential sowohl der berechnete pH-Wert als auch die Sauerstoffkonzentration abgebildet werden konnten. Abbildung 26 verdeutlicht den sogenannten oberen Messpunkt, an welchem kein Druck auf die Elektroden und Sensoren wirkte. Abbildung 27 stellt den unteren Messpunkt dar:



Messpunkt "oben", 100 mL Würzlösung, Raumtemperatur, ungerührt, 5,00 g Bäckerhefe

Abbildung 26: Messung des pH-Wertes, des Redoxpotentials und der Sauerstoffkonzentration am oberen Messpunkt im Messzylinder

Der pH-Wert sank während dieser 300 minütigen Messung (Abbildung 26) von etwa pH = 5,8 auf pH = 4,3 ab. Die Sauerstoffkonzentration stieg zu Beginn leicht an, sank dann jedoch fast auf 0 mg/L. Auch das Redoxpotential fiel von 280 mV auf -75 mV. Da die Messlösung nicht gerührt wurde und die Hefezellen nach der Zugabe stets zu Boden sanken, wurde ein Konzentrationsgefälle zwischen den oberen und unteren Flüssigkeitsschichten erzeugt. Da die Lösung nicht homogen vermischt werden konnte, bewirkte nur das punktuell gemessene Potential bzw. die „örtliche“ Konzentration an Sauerstoff ein Messsignal der Sensoren und Elektroden. Die Bildung der Reaktionsprodukte, Zunahme von Potential und Konzentration, wurde vom Messsystem je nach Position in der Lösung sprunghaft, verzögert oder gar nicht detektiert, wenn die Messlösung nicht durch äußere Einwirkung vermischt wurde. Bei Versuchsdurchführungen im Labormaßstab treten selten Konvektionsströmungen auf. In großen zylindrokonischen Tanks werden solche Umwälzungen der Flüssigkeit von Dichteunterschieden der Komponenten hervorgerufen, im Bier beispielsweise durch aufsteigendes CO₂. [1] In diesen Reaktionsbehältern ist demzufolge von einer besseren Durchmischung der Komponenten auszugehen. Ein beweglicher multisensorischer Messfühler könnte Veränderungen der Daten schneller und auch kontinuierlicher erfassen.



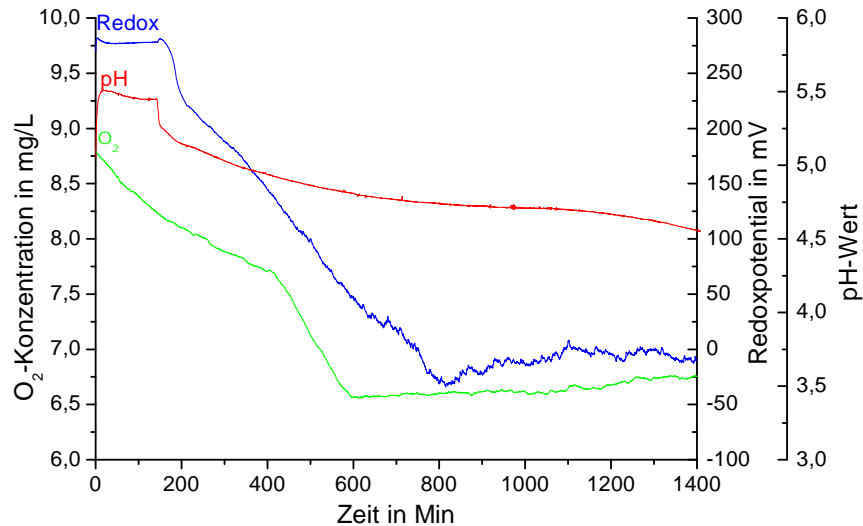
Messpunkt "unten", 100 mL Würzlösung, Raumtemperatur, ungerührt, 5,00 g Bäckerhefe

Abbildung 27: Messung des pH-Wertes, des Redoxpotentials und der Sauerstoffkonzentration am unteren Messpunkt im Messzylinder

In Abbildung 27 ist zu erkennen, welchen Einfluss der Ort der Messung auf die Ergebnisse nahm. Im Vergleich zu Abbildung 23, bei der die pH- und Redox-Elektrode und auch der Sauerstoff-Sensor nahe der Oberfläche eingebracht waren, zeigt diese Aufzeichnung einen geringeren Abfall sowohl vom pH-Wert als auch vom Redoxpotential. Der pH-Wert erniedrigte sich von etwa $\text{pH} = 5,4$ auf $\text{pH} = 4,5$ und stieg nach ca. 275 Minuten noch einmal von $\text{pH} = 4,5$ auf $\text{pH} = 4,75$ an. Das Redoxpotential ging von 225 mV bis auf -25 mV zurück. Auch hier war zum Ende ein etwas stärkerer Abfall zu erkennen. Besonderheit der Verläufe war in allen drei Fällen die leichte Veränderung der Parameter zum Schluss der Messung. Die ersten 50 Minuten verlief die Kurve der Sauerstoffkonzentration erfahrungsgemäß. Der Sauerstoffgehalt der Lösung sank von 7,5 mg/L auf 4,3 mg/L. Danach jedoch stellte sich eine unerwartete Änderung der Kurve ein. Die Konzentration an Sauerstoff nahm wieder von 4,3 mg/L auf 8,0 mg/L zu. Dieser hohe Wert entsprach annähernd der Sauerstoffsättigung in Wasser bei Raumtemperatur. Der Kurvenverlauf lässt sich möglicherweise auf die Inhomogenität der Lösung zurückführen. Da diese nicht gerührt wurde, könnte ein so großes Konzentrationsgefälle entstanden sein, dass sich dieses erst nach einiger Zeit durch eine Bewegung der Lösung aufgelöst hat. Durch die Umwälzung wurde wieder mehr Sauerstoff in die Lösung eingetragen, dessen Konzentration erst nach 270 Minuten wieder auf etwa 6 mg/L absank. Redoxpotential- und pH-Wert-Verlauf zeigten jedoch keine so starke Veränderung und einen erwarteten Verlauf und widersprechen der eben vermuteten Ursache des O_2 -Anstiegs. Es ist daher eher auf eine fehlerhafte O_2 -Messung zu schließen. Normal wäre das Absinken der O_2 -Konzentration auf fast 0 mg/L gewesen, da kein Eintrag durch Rühren erfolgte und die Zellen das Gas verbraucht hätten.

4.4.6 Einflussnahme des Rührens

In Abbildung 28 ist der Einfluss der gemessenen Parameter auf das Bäckerhefemedium dargestellt, wenn dieses gerührt wird:

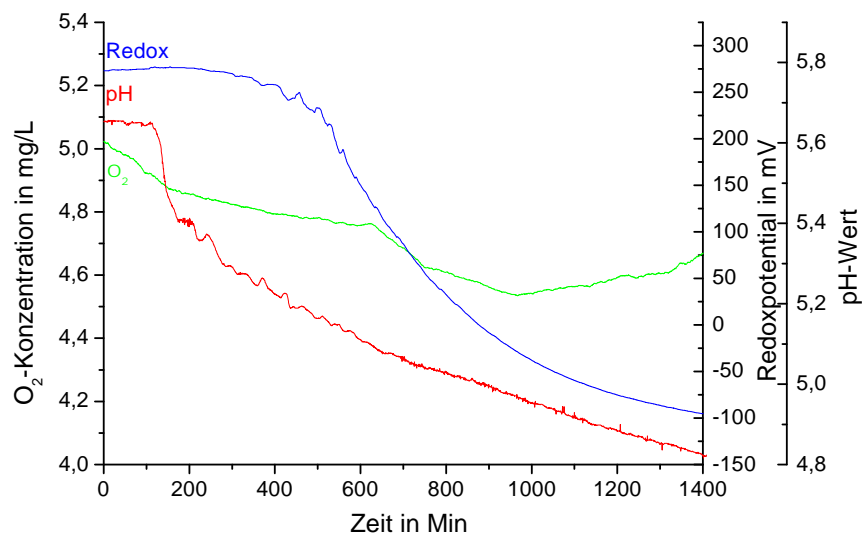


5,00 g Bäckerhefe in Würzlösung, Temperatur = 11° C, gerührt

Abbildung 28: Einfluss des Rührens auf die Parameter in einem Bäckerhefemedium

Das Redoxpotential in Abbildung 28 sank um 275 mV auf 0 mV. Der pH-Wert der Suspension erniedrigte sich von pH = 5,5 auf pH = 4,5. Die Sauerstoffkonzentration nahm gleich zu Beginn der Messung von 8,8 mg/l auf 6,8 mg/L ab. Die anderen beiden Parameter reagierten nach 200 Minuten mit fallenden Werten. Hier zeigte sich der typische Verlauf. Zudem erreichten die Parameter O₂-Konzentration und Redoxpotential nach ca. 600 bzw. 800 Minuten ein konstantes Messwertniveau auf Grund der Durchmischung. Auch der pH-Wert zeigte nur noch geringe Veränderungen am Messende.

Der Verlauf von Sauerstoffkonzentration, pH-Wert und Redoxpotential in Abhängigkeit einer ungerührten Bäckerhefesuspension wird in Abbildung 29 gezeigt:



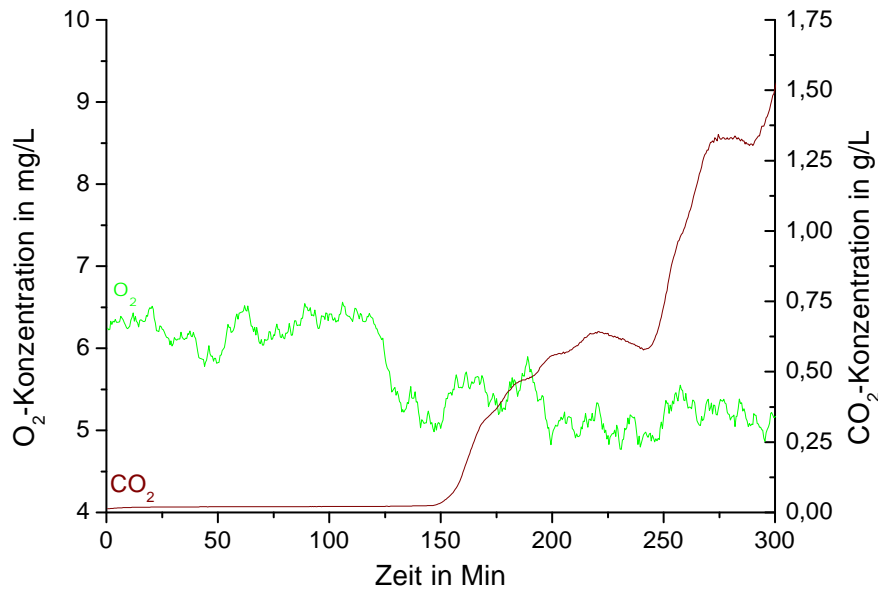
5,00 g Bäckerhefe in Würzlösung, Temperatur = 11° C, ohne Rühren

Abbildung 29: Einfluss des Rührens auf die Parameter in einem Bäckerhefemedium

Abbildung 29 zeigt ebenfalls ein von 275 mV (vgl. Abbildung 28) auf 0 mV sinkendes Redoxpotential. Die Schwankungen der Sauerstoff- und Redox-Werte nach etwa 200 und 400 Minuten erfolgten, da keine schnelle homogene Vermischung wie bei der gerührten Lösung stattfand. Die Sauerstoffkonzentration nahm gleichermaßen zu Beginn der Messung von niedrigeren 5,0 mg/l auf 4,7 mg/L ab. Der pH-Wert der Suspension fiel nach etwa 100 Minuten von pH = 5,7 auf pH = 4,8 und somit deutlich stärker als in Abbildung 28. Die Veränderungen der Parameterkurven verliefen in Abbildung 29 weniger steil als in Abbildung 28, da diese Lösung nicht gerührt wurde. Nach fast 24 Stunden stellten sich in Abbildung 29 noch keine konstanten Messwerte wie in Abbildung 28 ein.

4.4.7 Verlauf von O_2 - und CO_2 -Konzentration während der Gärung

Abbildung 30 zeigt den Verlauf der Kohlenstoffdioxidkonzentration im Vergleich zur Sauerstoffkonzentration in einer Versuchslösung:



350 mL Würzlösung, 11°C, ohne Rühren, 5,00 g Bäckerhefe

Abbildung 30: Verlauf von Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentration im Bäckerhefemedium

Es ist ein entgegengesetzter Verlauf der Konzentrationen an Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid in Abbildung 30 zu beobachten. Erst mit einem stärkeren Absinken der O_2 -Werte stiegen die CO_2 -Werte an. Auf Grund des besonderen Stoffwechsels der Hefezellen [16] steigt die CO_2 -Produktion mit dem Sauerstoffverbrauch, da zu Beginn der Zuckerabbau unter Sauerstoffverbrauch (Atmung) stattfand und erst mit einsetzender Gärung ein stärkerer Zuckerumsatz und damit eine deutlichere CO_2 -Produktion zu erkennen war. Dies war ab etwa 125 Minuten zu sehen. Während die Sauerstoffkonzentration von 6,25 mg/L auf 5,25 mg/L absank, wurde 1,50 g/L Kohlenstoffdioxid gebildet. Diese Konzentrationserhöhung beeinflusste den pH-Wert der Lösung merklich, wie in Abbildung 13 – Bäckerhefe – zu sehen war. Sauerstofflöslichkeit und Protonenaktivität stehen dagegen in keiner Abhängigkeit zueinander. Jedoch ist es für das endgültige Brauergebnis äußerst wichtig, dass nur noch sehr wenig Sauerstoff im Bier vorhanden ist. Um oxidativ bedingte Farb- und Geschmacksfehler zu vermeiden, sollte zum Zeitpunkt des Abfüllens nicht mehr als 1 mg/L O_2 enthalten sein. [13] Nach fünf Stunden Messung wurden von der Bäckerhefe bereits 30% der endgültigen Kohlenstoffdioxidkonzentration von etwa 5 g/L im Bier [22] produziert, was die schnelle Gärungsreaktion dieser Hefeart unterstreicht.

4.4.8 Überprüfung der Referenz-Elektrode

Referenz-Elektroden dienen mit einem konstanten Gleichgewichtspotential als Bezugspunkt für Potentialmessungen anderer Elektroden. Vertreter solcher Vergleichssysteme sind beispielsweise die Standardwasserstoffelektrode (NHE), die Silber/Silberchlorid Elektrode (Ag/AgCl) oder die Quecksilber/Quecksilber(I)-Chlorid-Elektrode (Hg/Hg₂Cl₂, auch Kalomel-Elektrode genannt). Für alle durchgeführten Versuche wurde stets eine Ag/AgCl-Referenz-Elektrode verwendet. Diese leitet Elektronen über die Redoxreaktion von Silber zu Silberchlorid und umgekehrt:



Da also immer das gleiche Bezugssystem zu Grunde lag, wurde auf eine Umrechnung der Werte im Anschluss jeder Messung verzichtet.

Die Referenz-Elektrode Ch-Ref-05 wurde während der experimentellen Phase regelmäßig auf Veränderungen ihres Grundpotentials kontrolliert, da sie mit ihrem konstanten Potential als Bezugswert für die pH- oder Redox-Elektroden diente. Die Potentiale der Elektrode Ch-Ref-05 wurden über mindestens 10 Minuten aufgezeichnet. Diese Messwerte sind in Abbildung 31 graphisch reproduziert gezeigt:

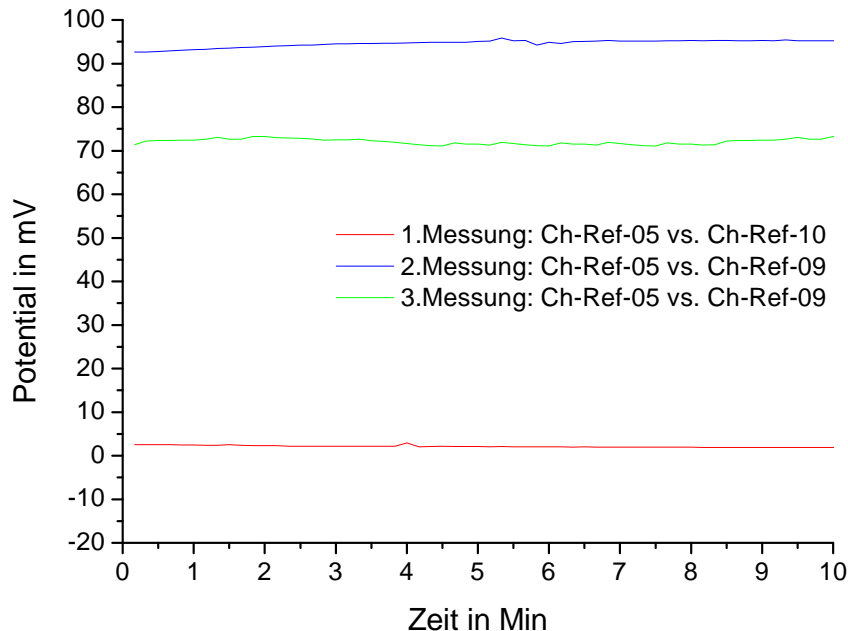


Abbildung 31: mehrmalige Überprüfung der Referenz-Elektrode Ch-Ref-05

Das Potential der Referenz-Elektrode Ch-Ref-05 veränderte sich über einen Zeitraum von sechs Monaten sehr stark. Anfangs bei 0 mV liegend und gegen die Referenz-Elektrode Ch-Ref-10 gemessen, nahm das Potential zuerst bis etwa 90 mV zu, anschließend wieder bis

75 mV ab. Bereits nach der zweiten Überprüfung wurde diese Elektrode als Referenzmessfühler ausgeschlossen und gegen eine unbenutzte Referenz ausgetauscht. Ch-Ref-05 dient hier lediglich als Beispiel, um den Alterungsverlauf und die Ursachen der Potentialänderungen aufzuzeigen und zu erklären. Die beiden Referenz-Elektroden Ch-Ref-10 und Ch-Ref-09, welche zur Überprüfung jeweils als Arbeitselektrode dienten, wurden ebenfalls auf ihr Grundpotential nahe 0 mV getestet und waren zum Zeitpunkt der Kontrolle unbenutzt. Um mögliche Gründe für die Potentialverschiebungen zu erklären, folgen vier Abbildungen im Anschluss. Die Fotos wurden unter Zuhilfenahme des Durchlichtmikroskops AXIO von Carl Zeiss aufgenommen.

In Abbildung 32 ist eine ungenutzte Ag/AgCl-Referenz-Elektrode zu sehen, welche bislang nicht zur Messung in Würzlsösung oder Hefesuspension eingesetzt wurde:

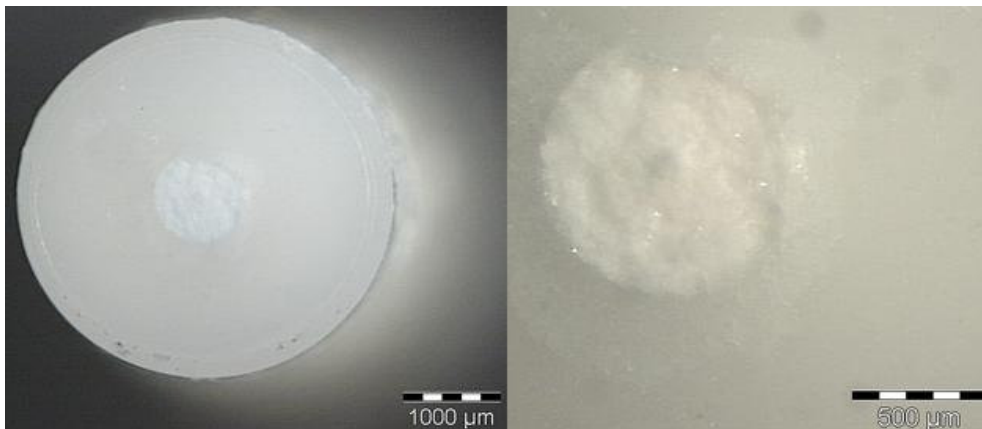


Abbildung 32: Foto einer ungenutzten Referenz-Elektrode (links) mit Diaphragma (rechts)

Es ist deutlich zu erkennen, dass diese Referenz (Bild 32, links) mittig ein weißes Diaphragma (Bild 32, rechts) besitzt. Es besteht aus einer porösen Zirkonoxid-Keramikmembran, welche als elektrisch leitende Verbindung den Elektronenübergang erleichtern soll.

Unter dem Mikroskop entstanden nach vier Monaten folgende Aufnahmen (Abbildung 33):

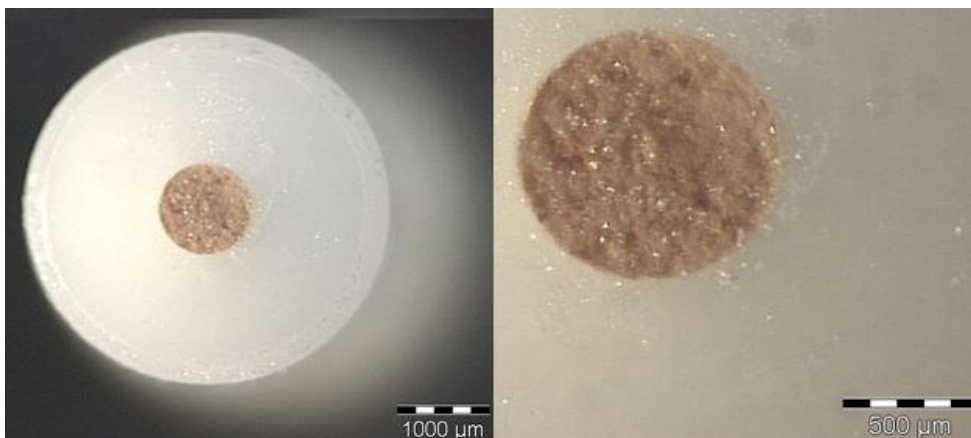


Abbildung 33: Foto einer Referenz-Elektrode (links) mit Verschmutzung des Diaphragmas (rechts) nach mehrmaligem Einsatz

Aufbewahrt wurde die Elektrode in einer 3 M KCl-Lösung, um Veränderungen des Innenwiderstandes durch Konzentrationsänderungen im Elektrolyten so gering wie möglich zu halten. Auch konnte dadurch eine gewisse Regenerierung der Elektrode bzw. des Elektrolyten erreicht werden (vgl. Abbildung 31 – 3. Messung), wie im Potentialunterschied von dritter zur zweiten Messung erkennbar war. Da die Untersuchungen der Parameter in wässrigen Suspensionen mit überwiegend Maltose, Saccharose und Hefezellen vorgenommen wurden, waren Verschmutzungen des Diaphragmas nicht zu verhindern. Die Poren wurden durch Zuckerkristalle verstopft und vor allem von Mikroorganismen so zugesetzt, dass nach bereits sechs Wochen erste Farbveränderungen des Diaphragmas unter dem Mikroskop zu erkennen waren. Nach vier Monaten waren diese Veränderungen bereits mit bloßem Auge sichtbar. Wie in Abbildung 31 gezeigt, wurde dadurch auch das Grundpotential der Referenz-Elektrode stark beeinflusst, so dass diese irreversibel beschädigt wurde und zukünftig gegen eine andere Ag/AgCl-Referenz-Elektrode ausgetauscht werden musste.

4.5 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die folgende Abbildung 34 zeigt die qualitative und quantitative Untersuchung einer Bierprobe mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie. Von dieser Probe wurden jeweils 20 µL über die HPLC-Säule laufen lassen. Die dazu gehörige Software berechnete Substanzkonzentrationen in mg/L und gab diese sowohl graphisch als auch rechnerisch aus. Die erstellten Chromatogramme sind im Anhang als Anlage 1 eingefügt, Tabelle 5 im Anhang enthält die zusammengefassten Werte. Abbildung 34 gibt die konstanten Messergebnisse der HPLC-Messung zusammengefasst wieder. Die Ergebnisse wurden auf Grund der großen Zahlenwerte in g/L dargestellt:

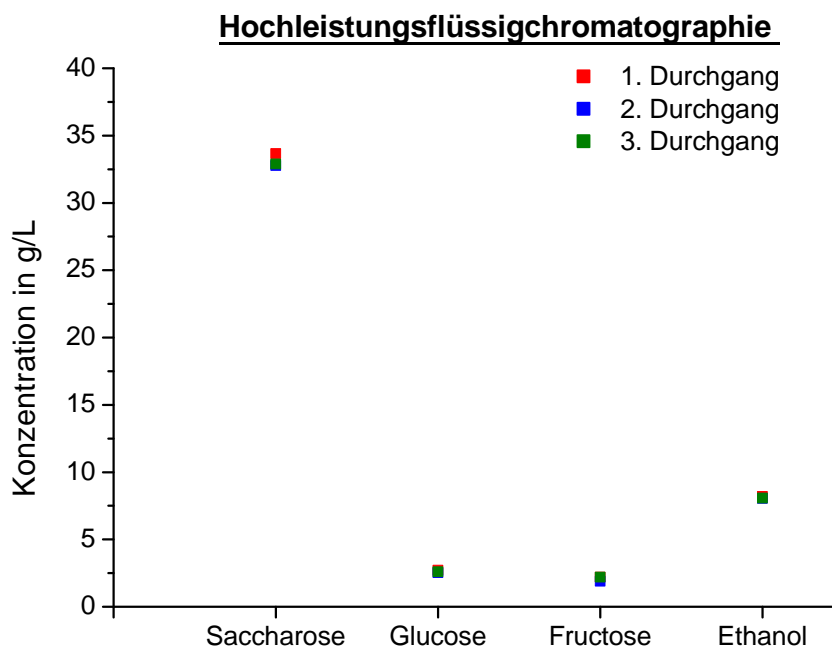


Abbildung 34: qualitative und quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe und ihrer Konzentrationen im Bier durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

In Abbildung 34 ist deutlich zu erkennen, dass nach dreitägiger Gärung noch ein großer Restanteil von durchschnittlich 33,1 g/L an Saccharose in der Lösung vorhanden war. Auch die Monosaccharide Glucose und Fructose, aus welchen sich Saccharose zusammensetzt, konnten mit jeweils 2,6 g/L und 2,1 g/L detektiert werden. Der produzierte Anteil Ethanol wurde mit durchschnittlich 8,1 g/L nachgewiesen. Im dritten Durchgang wurde 0,3 g/L Glycerin im Bier gefunden. Glycerin ist der einfachste dreiwertige Alkohol und wird als Zwischenprodukt bei Stoffwechselprozessen, wie der Gärung, gebildet. Da der Anteil im Vergleich zu allen anderen Inhaltsstoffen sehr gering war und diese Substanz nur einmal festgestellt werden konnte, wurde sie in dieser Darstellung vernachlässigt.

Läuft die alkoholische Gärung nicht nach dem beschriebenen Stoffwechselweg ab, sondern beispielsweise über den Abbau von Aminosäuren, können unerwünschte Nebenprodukte (Methanol, Butanol, Amylalkohol etc.) entstehen, die sehr giftig für den Organismus sind. [13]

Es wurden jedoch keine unerwünschten Nebenprodukte gefunden. Dies konnte einerseits auf die begrenzte Anzahl in der HPLC-Programmbibliothek vorhandener Stoffe zurück geführt werden. Andererseits kann jedoch auch geschlussfolgert werden, dass keine Verunreinigungen im Bier vorhanden waren und somit die Gärungsreaktion, wie erwünscht, fehlerlos ablief.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die in dieser Arbeit im Labormaßstab durchgeführten Untersuchungen zum Brauprozess bestätigten, dass pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoff- sowie Kohlenstoffdioxidkonzentration wichtige Parameter zur Beurteilung dieses Verfahrens sind. Die sensorische In-situ-Messung während der Gärungsreaktion kann zukünftig ein wichtiges Hilfsmittel zur Überwachung der Bierqualität darstellen.

Nur wenn bereits zu Anfang der Fermentation alle Parameter optimal eingestellt sind, erzielen die Hefezellen das gewünschte Ergebnis. So ist eine ausreichende Sauerstoffsättigung der Würzlösung von großer Bedeutung für Hefevitalität und Vermehrung. Vor dem Start der Gärungsreaktion sollte die Würze daher noch einmal gut belüftet werden, um eine O₂-Konzentration von über 10 mg/L bei einer Gärtemperatur von 11 °C oder mehr als 8 mg/L bei 25 °C zu erreichen. Während der Ethanolproduktion sollte weiterer Sauerstoffeintrag jedoch sorgfältig vermieden werden, da sonst unerwünschte Nebenprodukte gebildet werden können. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Untersuchung des Gärproduktes mit Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ermöglichte den Nachweis, dass innerhalb der gewählten Gärzeit keine unerwünschten Nebenprodukte entstanden.

Auch der pH-Wert sollte in engen Grenzen zwischen pH = 5 bis 6 liegen, um optimale Wachstumsbedingungen für die Hefezellen zu gewährleisten. Der optimale pH-Wert des fertigen Bieres für die Abfüllung liegt bei etwa pH = 4, um Stabilität, Haltbarkeit und Geschmack zu garantieren. Bei einem Großteil der Versuche konnte gezeigt werden, dass bereits nach wenigen Tagen der pH-Wert dieses Niveau erreichte. Der pH-Wert ist bei der Umsetzung von Maltose zu Ethanol, CO₂ und Wasser maßgeblich von der Produktion an Kohlenstoffdioxid in der Lösung abhängig, so dass die Konzentration sehr genau überwacht werden muss. Zudem bietet dieser Parameter eine gute Möglichkeit, die Stoffwechselaktivität der Hefezellen zu beurteilen. Bei geringer Aktivität, wird weniger CO₂ gebildet und der pH-Wert sinkt weniger stark als erwartet, was mit einer In-situ-Messung frühzeitig festgestellt werden kann.

Die Bildung von CO₂ startet sofort zum Zeitpunkt der Hefezugabe, da unter anderem die Gärungstemperatur abgestimmt auf den Arbeitsbereich der eingesetzten Mikroorganismen gewählt wird. Die Hefezellen benötigen daher keine lange Anpassungsphase an die Umgebungsbedingungen. Der Charakter eines Bieres wird entscheidend von seiner Kohlenstoffdioxidkonzentration bestimmt, da diese die sogenannte Spritzigkeit sowie die Schaumbildung, zum Teil den Geschmack und die Frische des Getränkes ausmacht. Die endgültige Konzentration sollte bei 5 g/L liegen, da das Bier sonst schal schmeckt. Diese Konzentration wurde in den Versuchen nicht erreicht, da hierbei die Gärung noch nicht vollständig abgeschlossen war. Bei einigen Messungen konnten allerdings bereits CO₂-Konzentrationen von 1,5 g/L und 2,1 g/L gemessen werden. Diese bereits nach kurzer Zeit (u.a.

nach fünf Stunden) gemessenen Werte lassen darauf schließen, dass nach mehreren Tagen der Fermentation die erwartete Kohlenstoffdioxidkonzentration produziert wird.

Weiterhin haben die zurückliegenden Untersuchungen ergeben, dass die Hefe als flüssige oder feste Suspension oder in trockener Form eingesetzt werden kann. Es bietet sich allerdings die Verwendung der Hefesuspension oder der Presshefe an, da bei diesen Formen die Stoffwechselaktivität schneller anspricht als bei einem Trockenpräparat. Je größer die eingesetzte Menge an Hefezellen war, desto schneller konnte der Zucker abgebaut werden. Dieser Einfluss verstärkte in den meisten Fällen auch die gemessenen Parameter. Allerdings ist die Anzahl der Zellen begrenzt durch den zur Verfügung stehenden Reaktionsraum. Die Zuckerquelle hatte bei allen drei Hefearten keine Auswirkung auf das Brauergebnis, da die meisten Hefearten an den Abbau unterschiedlicher Kohlenstoffquellen gewöhnt sind, dies war besonders am Stoffwechsel der Bäckerhefe zu beobachten. Die Menge an Zucker bestimmt die spätere Alkoholkonzentration und wird dahingehend ausgerichtet. Dadurch kann es lediglich zu längeren Reaktionszeiten der Gärung kommen.

Die ohne Rühren durchgeführten Ansätze lieferten in den Laborversuchen mitunter unerwartete Ergebnisse, was auf die Inhomogenität der Bräulösung zurück zu führen war. Die Konvektionsbewegungen in großen zylindrokonischen Brautanks bewirken im Produktionsmaßstab hingegen eine kontinuierliche Umwälzung der Flüssigkeit, wodurch dieser negative Effekt unterbunden werden kann. Auch der Vergleich zwischen breiterer Messzelle und einer Gärsäule lieferten keine auffallenden Resultate, da der Labormaßstab hierfür zu klein ausfiel.

Daher sollte ausblickend für eine bestmögliche Übertragung der Ergebnisse von Labor- auf Produktionsgröße ein steuerbares, bewegliches Multisensorbauteil konstruiert werden, welches zur Überwachung der wichtigen Parameter pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxid in Gärbottichen und –tanks eingesetzt werden kann. Dabei ist darauf zu achten, dass miniaturisierte Sensoren und Elektroden verwendet werden, da diese nur geringe Verwirbelungen in der Lösung erzeugen und den Gärprozess am wenigsten stören. Beachtet werden sollte allerdings, dass diese Sensoreinheit auf die gegebenen Druckverhältnisse angepasst sein muss. Anderenfalls ist ein Einsatz über einen längeren Zeitraum kompliziert, da der Innenelektrolyt der Sensoren schneller verbraucht wird und zur korrekten Messung nachgefüllt werden muss. Die Langzeitstabilität des sensorischen Messsystems konnte durch regelmäßige Kalibrierungen zuverlässig bestätigt werden.

Literaturverzeichnis

- [1] (05.07.2012) Verfasser unbekannt media@bier.de: *Bier im Mittelalter*.
URL: http://www.bier.de/bier-wissen/geschichte/druck_bier-im-mittelalter.html
URL: <http://www.bier.de/bier-tipps/etikettenwahnsinn-und-marketing/das-deutsche-reinheitsgebot.php>
URL: http://www.bier.de/bier-wissen/brauen-im-detail/druck_herstellen-des-bieres.html
- [2] (02.07.2012) Raimund Kalinowski rk@sachverstand-gutachten.de: *Bewusste Erzeugung von Gärungsnebenprodukten*.
URL: http://www.sachverstand-gutachten.de/veroeffentlichungen/veroeffentlichungen_brauerei_gaerungsnebenprodukte_braum_09_05.html
- [3] Sigg, Laura; Stumm, Werner: *Aquatische Chemie – Eine Einführung in die Chemie wässriger Lösungen und natürlicher Gewässer*. – Zürich: Verlag der Fachvereine, 1994, S. 9
- [4] (15.08.2012) Dr. Nagel, Gudrun: *Mykologie*.
URL: <http://nagl.netzreport.com/dokumente/fh/02fh.pdf>
- [5] Skripte Chemo- und Biosensorik, *Einführung, Sensortechnik Teile 1-3*.WS 2010/11, Prof. Dr. Winfried Vonau
- [6] Fortbildungskurs zu Chemo- und Biosensorik, 1992, Prof. Dr. Karl Cammann, Astec – Agentur für Sensor-Technologie GmbH, S. 1, S. 307
- [7] Geske, Stefanie (2012) *Charakterisierung miniaturisierter elektrochemischer Sensoren für biotechnologische Anwendungen*. 21 Seiten Mittweida, Hochschule Mittweida, Mathematik/ Naturwissenschaften/ Informatik, Praktikumsbericht: Seite 3 ff.
- [8] (28.03.2012) Rödiger, V.; Prof. Dr. Schubert, V.: *Konduktometrische Indikation*.
URL: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/11/cmt/vlus/titration.vlu/Page/vsc/de/ch/11/cmt/simulationen/titration/konduktometrie.vscml.html>
- [9] Schuler, Peter: *Oxi-Fibel – Einführung in die Gelöstsauerstoff-Messtechnik*. – Weilheim: WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, 1987, S. 18, S. 22 f.
- [10] (16.07.2012) Zosel et al. (July 2011): *The measurement of dissolved and gaseous carbon dioxide concentration*. IOP Publishing – Measurement Science and Technology. Review Article Vol.22 Number 7: Seiten 5, 6
- [11] (13.07.2012) Verfasser unbekannt: *Reinheitsgebot*.
URL: http://www.uni-protokolle.de/Lexikon/Reinheitsgebot.html#Das_Bayerische_Reinheitsgebot
- [12] (13.07.2012) Schmitz, Alfried redaktion@wdr.de: *Bierherstellung*.
URL: http://www.planet-wissen.de/alltag_gesundheit/trinken/bierherstellung/index.jsp
- [13] Prof. Dr. Belitz, Hans-Dieter; Prof. Dr. Grosch, Werner; Prof. Dr. Schieberle, Peter (2001): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. 5. Auflage: Springer Verlag, Seite 879-892

- [14] (16.07.2012) Verfasser unbekannt: *Der Brauvorgang*.
URL: <http://www.huus-braui.ch/images/typ464/16.jpg>
- [15] (16.07.2012) Beer, Michael beer@tirado.de: *Hefe zum Bier brauen*.
URL: www.bierundwir.de/brauen/hefe.htm
- [16] (02.07.2012) Verfasser unbekannt: *Stoffwechsel Hefen, Backhefe*.
URL: http://de.wikipedia.org/wiki/Alkoholische_G%C3%A4rung#Die_Rolle_im_Stoffwechsel, <http://de.wikipedia.org/wiki/Backhefe>
- [17] (20.07.2012) Dr. Bieg, Sabine; Prof. Dr. Maelicke, Alfred: *Alkoholische Gärung / Massenwirkungsgesetz / Henry'sches Gesetz*.
URL: <http://www.chemgapedia.de/vsengine/...>
- [18] (25.07.2012) Verfasser unbekannt: *HPLC Grundlagen und HPLC Infos*.
URL: http://www.alphacrom.com/hplc_grundlagen.html
- [19] (25.07.2012) Dr. Zuern et al.: *Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC)*.
URL: http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/croma_hplc_detail1.vlu.html
- [20] Ramsch; Sellner: *Der Kohlenstoffkreislauf*. D. Aqu. u. Terr. Z. (DATZ), 1996, S. 398 ff.
- [21] Verfasser unbekannt: *CO₂-Löslichkeit in Wasser*. Kurt-Schwabe-Institut für Mess- und Sensortechnik e.V. Meinsberg, 2009
- [22] (15.08.2012) Dr. Lange, Gabriele: *Kohlenstoffdioxid – Ein Gas mit Wirkung*.
URL: <http://www.chemie1.uni-rostock.de/didaktik/pdf/Kohlenstoffdioxid.pdf>

Anhang

Material

1 Chemikalien

- *Aufbewahrungslösung Referenzelektroden - 3 molare Kaliumchloridlösung:*
 - Kaliumchlorid [KCl], $\geq 99,5\%$, p.a., ACS, ISO
Carl Roth GmbH + Co. KG, Charge: 34359873 und 519111240
- *NBS-Puffer - 0,025 molare Phosphatpufferlösung, pH = 6,86:*
 - Kaliumdihydrogenphosphat [KH₂PO₄], $\geq 99\%$, p.a., ACS
E. Merck, Charge: 939 A437073
 - di-Natriumhydrogenphosphat [Na₂HPO₄], $\geq 99\%$, p.a., ACS
Fluka Chemie AG, EEC No.: 2314487
- *NBS-Puffer - 0,05 molare Kaliumhydrogenphthalatlösung, pH = 4,01:*
 - Kaliumhydrogenphthalat [KHC₈H₄O₄], $\geq 99,5\%$, p.a., ISO
Fluka Chemie AG, EEC No.: 2128894
- *NBS-Borax-Puffer – 0,01 molare Boraxlösung, pH = 9,18*
 - Natriumtetraborat Decahydrat [Na₂B₄O₇ * 10 H₂O], $\geq 99,5\%$, p.a., ACS, ISO
Sigma-Aldrich Chemie GmbH, EC No.: 2155404
- *gelbes Blutlaugensalz – 0,1 molare Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat-Lösung, $\omega = 13,22\%$:*
 - Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat [K₄[Fe(CN)₆] * 3 H₂O], $\geq 99\%$, p.a., ACS, ISO
Fluka Chemie AG, EINECS No.: 2377222
- *rotes Blutlaugensalz – 0,1 molare Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung, $\omega = 16,96\%$:*
 - Kaliumhexacyanoferrat(III) [K₃[Fe(CN)₆]], $\geq 99\%$, p.a., ACS
Fluka Chemie AG, EEC No.: 2373233
- Malzextrakt, Weyermann
- Bäckerhefe – LincoHefe, Charge: 42200598
- Bäckerhefe – keine Herstellerangaben vorhanden, 500 g
- Bierhefe Flocken – Biolabor, Charge: L1093, 100 g
- Brauhefe – VLB Berlin, keine weiteren Angaben vorhanden
- Raffinade – Feiner Zucker, EUCCO GmbH, Charge: L120722000
- Würfelzucker – Zeitzer Würfel, Südzucker AG, 12 L220214600, 1 000 g

2 Labormaterial

- temperierbare Messzelle (ca. 500 mL)
- temperierbares CO₂-Messgefäß mit Anschlüssen
- Bechergläser (25 mL bis 2000 mL)
- Messzylinder (10 mL bis 500 mL)
- Maßkolben (250 mL bis 1000 mL)
- Glastrichter
- Glasrührstab
- Magnetrührstäbchen
- Löffelspatel, groß und klein
- Uhrglasschale
- Glasschalen
- Wägetrichter
- Stative
- Stativklammern

3 Geräte

- Analysenwaagen, Sartorius AG
- Präzisionswaage, Sartorius AG
- LM 2000 - Multiparameter Instrument, Sensortechnik Meinsberg GmbH
- PalmSens - Electrochemical Sensor Interface, Palm Instruments BV
- WinLab Data Line pH-Meter, Windaus Labortechnik
- Jasco HPLC System mit ReproGel-H Säule und RI-Detektor
- Variomac Elektronicrührer mit Heizfunktion, Roth, Karlsruhe
- elektrischer Rührer, VEB MLW Labortec Ilmenau
- Pipetten (1-10 µL, 1-10 mL, 10-100 mL, 200-1000 mL)
- Eich- und Laborthermometer
- Thermostat – ministat compatible control, Huber
- Kältethermostat K20, E10, meding Lab, Freital
- Auflichtmikroskop Highlight 3000, Olympus Europe
- Durchlichtmikroskop AXIO, Carl Zeiss
- Neubauer-Zählkammer, Fein-Optik Bad Blankenburg

Ergebnisse

1 Kalibrierung CO₂-Sensor

Tabelle 1: Potentialwerte CO₂-Sensor G21

NaHCO ₃ -Konzentration in mg/L	Potential in mV
30	-154,66
100	-126,42

Diese Tabelle gehört zu Abbildung 9 – Kalibrierung CO₂-Sensor - im Hauptteil.

2 Kalibrierung pH-Elektrode

Tabelle 2: Messwerte der Kalibrierungen der pH-Elektrode Ch-pH-01

pH-Wert	1.Kalibrierung	2.Kalibrierung	3.Kalibrierung
	in mV	in mV	in mV
4,01	161,59	154,67	150,70
6,86	2,59	-3,50	-13,68
9,18	-130,25	-136,64	-137,49

Diese Tabelle gehört zu Abbildung 10 – Kalibrierungen pH-Elektrode Ch-pH-01 – im Hauptteil.

3 Kalibrierung Redox-Elektrode

Tabelle 3: Messwerte der Kalibrierungen der Redox-Elektrode Ch-Redox-13

Mischungs- verhältnis BLSL	Massenanteil der Mischung	1.Kalibrierung	2.Kalibrierung	3.Kalibrierung
	in %	in mV	in mV	in mV
1 Teil rot : 2 Teile gelb	14,27	218,20	220,25	222,29
1 Teil rot : 1 Teil gelb	14,86	236,38	237,97	240,04
2 Teile rot : 1 Teil gelb	15,50	257,15	256,29	256,84

Diese Tabelle gehört zu Abbildung 11 – Überprüfungen Redox-Elektrode Ch-Redox-13– im Hauptteil.

4 Kalibrierung O₂-Sensor**Tabelle 4: Messwerte der Kalibrierungen des Sauerstoff-Sensors Nr.62**

Zeit in Min	Gasphase	1.Kalibrierung	2.Kalibrierung	3.Kalibrierung
	Befeuchtete(r)	in nA	in nA	in nA
0 - 5	Luft	0,875	1,333	1,197
5 - 10	Stickstoff	0,250	0,459	0,207
10 - 15	Luft	0,875	1,333	1,203
15 - 20	Stickstoff	0,250	0,483	0,203
20 - 25	Luft	0,875	1,335	1,207

Diese Tabelle gehört zu Abbildung 12 – Vergleich der Kalibrierungen des Sauerstoff-Sensors Nr.62 – im Hauptteil.

5 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Tabelle 5: Messwerte der HPLC-Messung

Substanz	Konzentration in g/L	Konzentration in g/L	Konzentration in g/L	
	Durchgang 1	Durchgang 2	Durchgang 3	Durchschnitt
Saccharose	33,67	32,77	32,89	33,11
Glucose	2,72	2,53	2,60	2,62
Fructose	2,20	1,89	2,19	2,09
Ethanol	8,19	8,04	8,07	8,10

Diese Tabelle gehört zu Abbildung 34 – qualitative und quantitative Bestimmung der Inhaltsstoffe und ihrer Konzentrationen im Bier durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie – im Hauptteil.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus Quellen entnommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Mittweida, den 15.08.2012

Stefanie Geske